



UNIVERSIDAD DE JAÉN  
*Centro de Estudios de Postgrado*

# **POLIFENOLES DEL AOVE EN LA SALUD. INTERACCIÓN CON LA MICROBIOTA INTESTINAL**

**Alumno:** Maria Nieves Ortega Ruiz

**Tutores:** Nabil Benomar El Bakali  
Natacha Caballero Gómez

**Dpto.:** Ciencias de la Salud

**Julio, 2023**



Nabil Benomar El Bakali y Natacha Caballero Gómez, del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaén.

Como **Tutor/a** de D<sup>a</sup>. Maria Nieves Ortega Ruiz, en el Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva, durante el curso 2022-2023.

**INFORMA:** Que el presente trabajo fin de máster, *“POLIFENOLES DEL AOVE EN LA SALUD. INTERACCIÓN CON LA MICROBIOTA INTESTINAL”* ha sido realizado por D<sup>a</sup>. Maria Nieves Ortega Ruiz, para la obtención del Título de Máster Universitario en Olivar y Aceite de Oliva por la Universidad de Jaén, bajo la dirección de la Dra. D<sup>ña</sup>. Adoración Mozas Moral.

Jaén, a 30 de JUNIO de 2023

M/NOR  
am

Fdo.: Alumno/a

Fdo.: Adoración Mozas Moral

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad de Jaén por la formación recibida en los últimos 6 años tanto de Grado como de Máster, así como a los tutores Nabil Benomar El Bakali y Natacha Gómez Caballero por su valiosa colaboración en la realización de este TFM. También deseo expresar mi gratitud a mi familia y amigos por su apoyo durante mi formación, a mi pareja por brindarme orientación y motivación en mi área de interés, y a mis compañeras de Grado en Biología, Máster en Avances en Seguridad de los Alimentos y Máster en Olivar y Aceites de Oliva, por brindarme su amistad y hacer las clases más entretenidas. Por último, agradecer a la coordinadora, Adoración Mozas Moral, su dedicación a cada uno de los alumnos y el apoyo recibido a lo largo de todo el curso.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
1.1. ACEITES DE OLIVA.....	11
1.1.1. Componentes del aceite de oliva.....	11
1.1.2. Clasificación de los aceites de oliva.....	13
1.1.3. Polifenoles del aceite de oliva virgen.....	14
1.1.3.1. Absorción de los polifenoles.....	16
1.1.3.2. Clasificación de los polifenoles.....	16
1.2. MICROBIOTA INTESTINAL.....	20
1.2.1. Funciones de la microbiota.....	21
1.2.2. Factores que afectan a la microbiota.....	22
1.2.3. Enfermedades relacionadas con la microbiota.....	22
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>25</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
4.1. BENEFICIOS DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE EN LA SALUD.....	27
4.1.1. Protección frente a enfermedades cardiovasculares y obesidad.....	28
4.1.2. Actividad antidiabética y reducción de la presión arterial.....	32
4.1.3. Protección frente a enfermedades neurodegenerativas.....	37
4.1.4. Actividad anticancerígena.....	38

4.1.5. Actividad antimicrobiana y antiviral.....	41
4.1.6. Protección frente a enfermedades cutáneas.....	42
4.2. RELACIÓN POLIFENOLES-MICROBIOTA: EFECTO DUPLIBIÓTICO.....	44
4.2.1. Impacto de la microbiota sobre los polifenoles.....	45
4.2.2. Impacto de los polifenoles en la microbiota.....	45
4.2.2.1. Acción prebiótica.....	47
4.2.2.2. Efecto antimicrobiano.....	49
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Clasificación de los aceites de oliva según su acidez libre (expresada en ácido oleico).....	14
<b>Tabla 2.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el papel cardioprotector de los polifenoles del AOVE.....	28
<b>Tabla 3.</b>	Trabajos de predimed seleccionados para justificar el papel cardioprotector de los polifenoles del AOVE.....	29
<b>Tabla 4.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el efecto antiobesidad de los polifenoles del AOVE.....	31
<b>Tabla 5.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el efecto antidiabético de los polifenoles del AOVE.....	32
<b>Tabla 6.</b>	Trabajos seleccionados para respaldar el efecto antihipertensivo de los polifenoles del AOVE.....	34
<b>Tabla 7.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el efecto antineurodegenerativo de los polifenoles del AOVE.....	38
<b>Tabla 8.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el efecto anticancerígeno de los polifenoles del AOVE.....	39
<b>Tabla 9.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el efecto antimicrobiano y antiviral de los polifenoles del AOVE.....	42
<b>Tabla 10.</b>	Trabajos seleccionados para justificar el papel protector de la piel de los polifenoles del AOVE.....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Principales componentes del aceite de oliva virgen.....	13
<b>Figura 2.</b>	Tipos de aceites y su contenido en polifenoles.....	15
<b>Figura 3.</b>	Estructura química de los principales polifenoles.....	18
<b>Figura 4.</b>	Papel de la microbiota en la salud y en la enfermedad.....	23
<b>Figura 5.</b>	Incidencia de ECV y mortalidad en la población ensayada.....	30
<b>Figura 6.</b>	Relación cintura-altura basal y ECV.....	32
<b>Figura 7.</b>	Medida de la glucosa en pacientes con DM2.....	33
<b>Figura 8.</b>	Relación diabetes y dieta mediterránea.....	34
<b>Figura 9.</b>	Cambios en la PAS, PAD y EPT, según el grupo de intervención.....	36
<b>Figura 10.</b>	Presión arterial sistólica y diastólica, según el grupo de intervención.....	37
<b>Figura 11.</b>	Incidencia de cáncer de mama invasivo, en función del tipo de intervención dietética.....	40
<b>Figura 12.</b>	Proliferación celular en células de osteosarcoma tratadas con oleuropeína.....	41
<b>Figura 13.</b>	Proliferación celular en células cancerosas de hígado tratadas con oleocantal.....	41

<b>Figura 14.</b>	Principales mecanismos de acción de los polifenoles para disminuir la aparición de numerosas patologías.....	44
<b>Figura 15.</b>	Impacto de los polifenoles en la microbiota intestinal.....	51
<b>Figura 16.</b>	Modo de acción de los polifenoles en la microbiota.....	52

## **RESUMEN**

En los últimos años, los polifenoles presentes en el aceite de oliva virgen extra (AOVE) han sido ampliamente estudiados por sus numerosos beneficios para la salud, reduciendo el riesgo de padecer numerosas enfermedades. Una vez absorbidos, la mayoría de los compuestos fenólicos ingeridos llegan al colon, donde ejercen un impacto modulador sobre la microbiota intestinal. Por ello, esta revisión se centra en los beneficios de los polifenoles del AOVE para la salud y su capacidad para promover bacterias intestinales beneficiosas e inhibir aquellas especies potencialmente patógenas, ejerciendo este doble efecto modulador. Tras una amplia búsqueda, se ha comprobado que el genoma de las bacterias beneficiosas codifica una serie de enzimas asociadas a polifenoles (PAZymes) involucradas exclusivamente en la degradación de estos compuestos fenólicos, transformándolos en metabolitos, lo que les permite su persistencia en el ecosistema intestinal. Sin embargo, los polifenoles también pueden inhibir el crecimiento de cepas patógenas que provocan enfermedades en la salud, ejerciendo un efecto antimicrobiano. En conclusión, hay evidencias que respaldan los efectos beneficiosos de los polifenoles para prevenir diversas enfermedades, especialmente a nivel intestinal, pero se necesitan más estudios para investigar este efecto en humanos.

## **PALABRAS CLAVE**

Antimicrobiano, AOVE, bacteria, beneficios, compuestos fenólicos, enfermedades, microbiota intestinal, polifenoles y salud.

## **ABSTRACT**

In recent years, the polyphenols present in extra virgin olive oil (EVOO) have been widely studied for their numerous health benefits, reducing the risk of developing various diseases. Once absorbed, most of the ingested phenolic compounds reach the colon, where they exert a modulating impact on the intestinal microbiota. Therefore, this review focuses on the health benefits of EVOO polyphenols and their ability to promote beneficial intestinal bacteria and inhibit those potentially pathogenic species, exerting this double modulating effect. After an extensive search, it has been found that the genome of beneficial bacteria encodes a series of enzymes associated with polyphenols (PAZymes) involved exclusively in the degradation of this phenolic compounds, transforming them into metabolites, which allows them to persist in the intestinal ecosystem. However, polyphenols can also inhibit the growth of pathogenic strains that cause health diseases, exerting an antimicrobial effect. In conclusion, there is evidence supporting the beneficial effects of polyphenols in preventing various diseases, especially at the intestinal level, but further studies are needed to investigate this effect in humans.

## **KEYWORDS**

Antimicrobial, bacterium, benefits, diseases, EVOO, gut microbiota, health, phenolic compounds and polyphenols.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. ACEITES DE OLIVA

La dieta mediterránea (MedDiet) se distingue por una ingesta abundante en frutas, verduras, legumbres, frutos secos, cereales y grasas monoinsaturadas. Entre los principales alimentos que conforman la MedDiet se encuentra el aceite de oliva virgen extra, que incluye numerosos impactos positivos para la salud, entre ellos, disminuye la incidencia de enfermedades cardiovasculares, una de las principales causantes de mortalidad a nivel mundial, y la hipertensión (Hidalgo et al., 2014).

Tal y como describe el Consejo Oleícola Internacional (COI), los aceites de oliva vírgenes son los que se extraen de la aceituna exclusivamente por medios mecánicos u otros medios físicos (sin intervención química) bajo condiciones, especialmente térmicas, que no ocasionen modificaciones en el aceite, y sin haber sido sometido a procesos adicionales más allá del lavado, decantación, centrifugación y filtración (Ly et al., 2021). Esta característica los diferencia de los aceites de oliva refinados, los cuales son sometidos a intervención química para ser comestibles (Gorzynik et al., 2018).

Hay varios aspectos que afectan a la calidad del aceite de oliva, entre ellos, factores previos a la cosecha (método de cultivo, área de cultivo, condición ambiental, suelo, edad del árbol, tratamiento, riego, tiempo de cosecha, recolección y maduración del fruto), así como factores posteriores a la cosecha (almacenamiento del fruto, eliminación y lavado de hojas, trituración, batido de la pasta, sistemas de extracción de aceite, almacenamiento de aceite, cocción, etc.) (Ly et al., 2021).

#### 1.1.1. Componentes del aceite de oliva

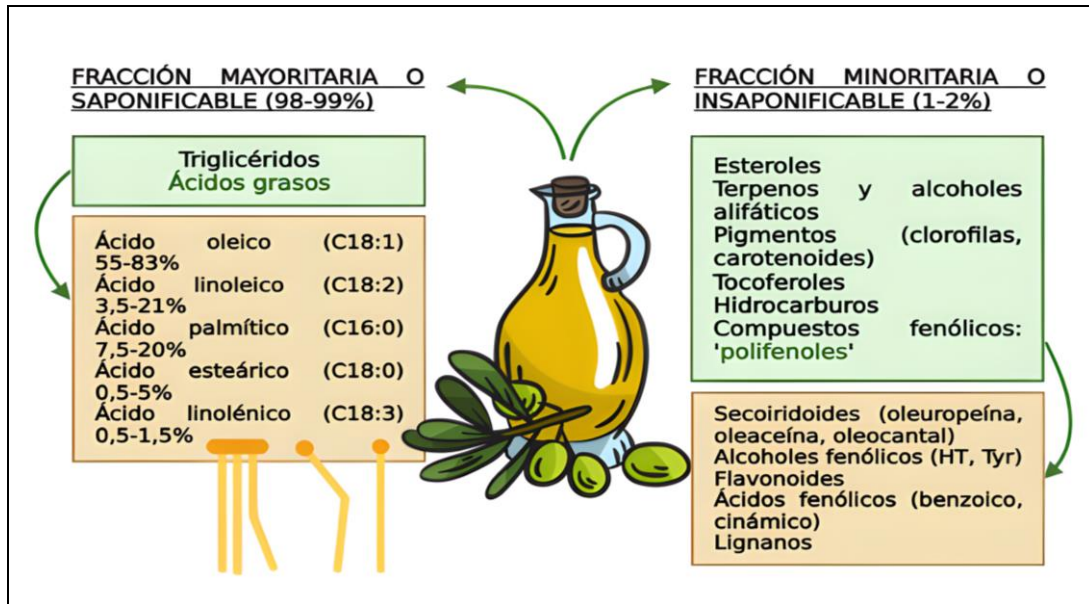
Los componentes del aceite de oliva se dividen en dos fracciones:

- Fracción mayoritaria o saponificable (98,5–99,5% del peso total). Destacan los triglicéridos formados por ácidos grasos (Romani et al., 2019). Los principales ácidos grasos presentes en el aceite de oliva son el oleico (C18:1), palmítico

(C16:0), palmitoleico (C16:1), esteárico (C18:0), linoleico (C18:2), linolénico (C18:3) y mirístico (C14:0). Sin embargo, se encuentran en cantidades mínimas los ácidos heptadecanoico y eicosanoico (Serreli and Deiana, 2018). De todos ellos, el ácido graso más abundante es el ácido oleico monoinsaturado, representando aproximadamente un 83% (Ly et al., 2021), seguido de los ácidos grasos poliinsaturados (4-20%, linoleico y  $\alpha$ -linolénico) y ácidos grasos saturados (8-14%, palmítico y esteárico) (Figura 1). En términos generales, la acidez de los aceites se debe principalmente a la presencia de ácidos grasos libres (AGL), que se forman por la hidrólisis de los lípidos en ácidos grasos y glicerol. Por tanto, a medida que aumenta la concentración de AGL, se incrementa la acidez (expresada como porcentaje de ácido oleico) y la calidad de los aceites disminuye, aunque esto dependerá de muchos otros factores (Marcelino et al., 2019).

- Fracción minoritaria o insaponificable (0,5–1,5% del peso total). Constituida por más de 230 compuestos, incluyendo hidrocarburos (escualeno), pigmentos (clorofilas), carotenoides, tocoferoles, alcoholes alifáticos y triterpénicos, fitoesteroles ( $\beta$ -sitosterol), compuestos fenólicos y compuestos volátiles. (Figura 1) (Ly et al., 2021). Entre los componentes minoritarios, que aportan al aceite aroma, gusto y color, aparte de ser los responsables de la mayoría de sus actividades biológicas y propiedades funcionales, los más conocidos por sus propiedades antioxidantes son los compuestos fenólicos, comúnmente llamados “polifenoles”. Estos, a su vez, se dividen en varios grupos, incluyendo secoiridoides, alcoholes fenólicos, flavonoides, ácidos fenólicos y lignanos, que se detallarán más adelante (Sánchez & D Mesa, 2018).

**FIGURA 1. PRINCIPALES COMPONENTES DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN**



Fuente: Elaboración propia a partir de Serreli and Deiana (2020).

### 1.1.2. Clasificación de los aceites de oliva

Las propiedades sensoriales y químicas determinarán la clasificación de los aceites: el aceite de oliva virgen (AOV) es un aceite que presenta una acidez libre (expresada en ácido oleico), no superior al 2 %, esta característica, entre otras que determinan la categoría, están fijadas por la norma del Consejo Oleícola Internacional (COI). La presente norma comercial aplicable a los aceites de oliva y los aceites de orujo de oliva establece los criterios fisicoquímicos de cada una de las denominaciones de aceite de oliva y aceite de orujo de oliva mencionadas en el Convenio Internacional, así como los criterios de calidad y de pureza que distinguen cada denominación. Por otro lado, el aceite de oliva en general (AO) es aquel formado por una mezcla de aceite de oliva refinado y aceites de oliva vírgenes aptos para el consumo, con una acidez libre de no más del 1 %, siendo el resto de sus características determinadas por la norma del COI. En el caso del aceite de oliva virgen extra (AOVE) su acidez libre no es superior a 0,8 % y el resto de sus características estarán en la norma del COI. Por último, cuando hablamos de aceite de oliva refinado (AOR) nos referimos a aquel obtenido a partir de aceites de oliva vírgenes por métodos de refinado (sin alteración de la estructura primaria de los

glicéridos), con una acidez libre de no más del 0,3 %, siendo el resto de sus características fijadas por la norma del COI (Tabla 1) (Ly et al., 2021).

**TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES DE OLIVA SEGÚN SU ACIDEZ LIBRE (EXPRESADA EN ÁCIDO OLEICO)**

Denominación	Acidez Libre
Aceite de Oliva Virgen (AOV)	≤ 2 %
Aceite de Oliva (AO)	≤ 1 %
Aceite de Oliva Virgen Extra (AOVE)	≤ 0,8 %
Aceite de Oliva Refinado (AOR)	≤ 0,3 %

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos proporcionados por el Consejo Oleícola Internacional (COI, 2009).

Anteriormente se ha comentado que conforme aumenta la acidez, se reduce la calidad de los aceites. Sin embargo, esto dependerá de muchos otros factores, pues como se observa en la tabla, aunque el aceite de oliva virgen extra contiene mayor acidez que el aceite de oliva refinado, la calidad del AOVE es muy superior a la del AOR, debido a que este último se ha sometido al proceso de refinado que implica la eliminación de los ácidos grasos libres presentes. Por su parte, el aceite de oliva virgen también muestra más acidez que el aceite de oliva, ya que este último contiene un pequeño porcentaje de aceite refinado que reduce el contenido de ácidos grasos, aunque claramente la calidad del AOV es más elevada que la del AO.

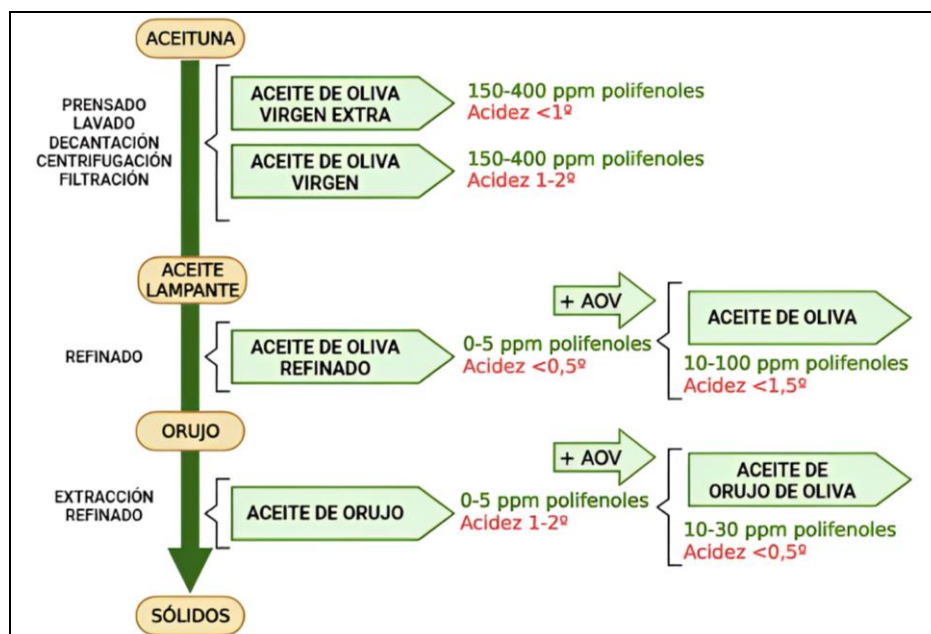
### 1.1.3. Polifenoles del aceite de oliva virgen

En la naturaleza existen diversos compuestos que contienen una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos, denominados polifenoles, aunque su estructura puede variar desde monómeros hasta polímeros complejos de alto peso molecular. Se originan fundamentalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad como producto de su metabolismo secundario, y colaboran en funciones de defensa frente situaciones de estrés y diversos estímulos (hídrico, luminoso, etc.). Además, pueden encontrarse en

algunos productos alimenticios, como el vino, la cerveza o el aceite de oliva y, sobre todo, en la cáscara de las frutas (Villalpando, 2016).

Del fruto del olivo *Olea europaea* L., familia Oleaceae, se produce un aceite en el que se han identificado más de 30 compuestos fenólicos hidrofílicos que contribuyen al olor y sabor distintivo característico del aceite. Sin embargo, el contenido de estos compuestos difiere en función de la variedad de aceituna (Picual, Hojiblanca, Arbequina, etc.), la madurez en el momento de su recolección, ciertos factores ambientales relacionados con el suelo y las prácticas de cultivo, clima, así como las condiciones de extracción (calentamiento, adición de agua y sistemas de extracción empleados para separar el aceite de la pasta de aceituna) y métodos de almacenamiento (D'Archivio et al., 2022). En consecuencia, una de las principales diferencias entre los variados tipos de aceites se halla en la cantidad de polifenoles, ya que en el AOR estos se agotan durante el proceso químico, mientras que en el AOV o AOVE esta cantidad se conserva al ser extraídos sin intervención química (Hidalgo et al., 2014). De hecho, el aceite de oliva virgen tiene un contenido medio de polifenoles de 150 a 400 mg/kg, mientras que el aceite de oliva refinado solo tiene presencia residual (0 a 5 mg/kg) (Figura 2) (Martínez et al., 2019).

**FIGURA 2. TIPOS DE ACEITES Y SU CONTENIDO EN POLIFENOLES**



Fuente: Elaboración propia a partir de Sánchez & D Mesa (2018).

#### 1.1.3.1. Absorción de los polifenoles

Los polifenoles contenidos en los alimentos generalmente están conjugados con azúcares o ácidos orgánicos, pero también pueden estar presentes como oligómeros no conjugados (D'Archivio et al., 2022). En los humanos, se ha demostrado que solo una pequeña porción de polifenoles (5 a 10% de la ingesta total) se absorben en el intestino delgado debido a su elevado peso molecular, mientras que la gran mayoría (90 a 95% de la ingesta total) se transportan al intestino grueso humano y llegan al colon, donde se descomponen en metabolitos de bajo peso molecular al interactuar con la microbiota (Rodríguez et al., 2021). Allí, pueden ejercer una doble función; por ejemplo, actúan contra enteropatógenos (efecto antimicrobiano) y estimulan el crecimiento de microorganismos beneficiosos, ejerciendo como prebióticos, entre otras actividades (Wang et al., 2022).

#### 1.1.3.2. Clasificación de los polifenoles

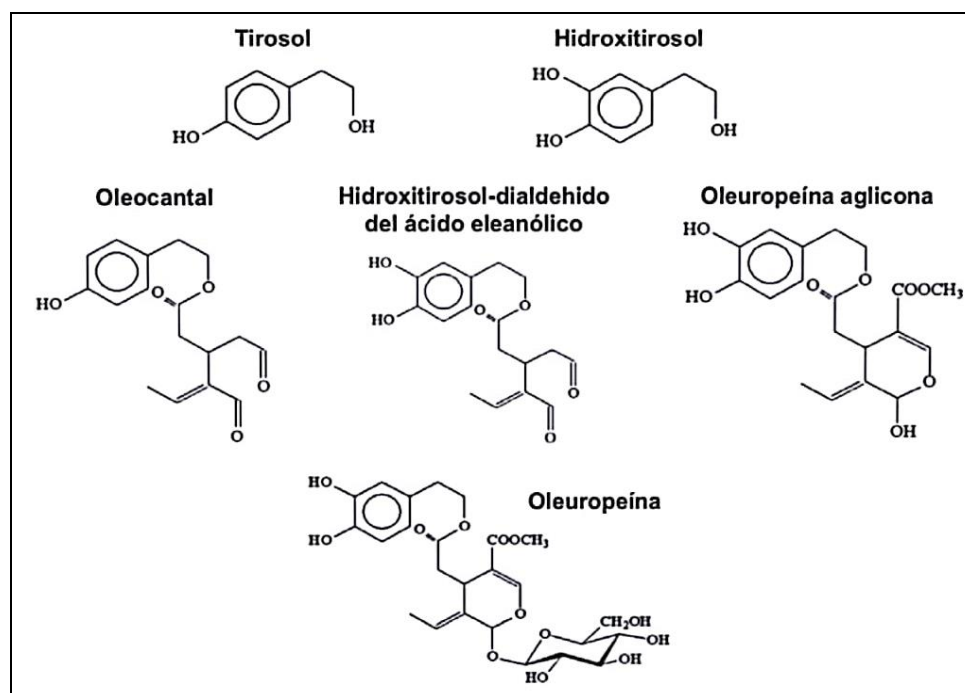
Se pueden identificar diversas categorías y subcategorías de polifenoles que se clasifican según el número de anillos fenólicos que contienen y de los elementos estructurales presentes en estos anillos (Villalpando, 2016). Como se ha comentado anteriormente, en los aceites de oliva vírgenes estos compuestos están presentes en un amplio rango de concentraciones y pertenecen a cinco subclases químicas (Romani et al., 2019):

- Secoiridoides: son formas dialdehídicas del ácido descarboximetilelenólico unido a tirosol (Tyr) o hidroxitirosol (HT); oleaceína, oleuropeína y oleocantal (Serreli and Deiana, 2020). Cabe destacar la oleuropeína, molécula responsable del sabor amargo de los aceites vírgenes, formada por la unión del ácido elenólico al hidroxitirosol mediante un enlace éster, y a la glucosa por un enlace glucosídico; su hidrólisis libera hidroxitirosol. También se halla la aglicona de oleuropeína y otros glucósidos. Por último, resalta el oleocantal, un éster del tirosol responsable del picor del AOVE en la garganta, el cual actualmente está siendo investigado por sus excelentes propiedades funcionales (Figura 3) (Sánchez & D Mesa, 2018).

- Feniletanoides o alcoholes fenólicos: poseen un grupo hidroxilo (-OH) unido a un grupo hidrocarburo aromático y destacan HT y Tyr junto con sus precursores secoiridoides. Ambos comparten una estructura química similar, pero se diferencian en la presencia de un grupo hidroxilo en el hidroxitirosol en la posición 3 del anillo B, que le confiere un mayor poder antioxidante. Su concentración suele ser baja en aceites frescos, pero aumenta durante el almacenamiento del aceite debido a la hidrólisis de los secoiridoides (Figura 3) (Romani et al., 2019).
- Flavonoides: su estructura básica se compone de dos anillos de benceno unidos por un puente o cadena lineal de tres átomos de carbono. Los flavonoides son, en gran parte, moléculas planas y su variación estructural proviene en parte del patrón de modificación por hidroxilación, metoxilación, prenilación o glicosilación. Las agliconas flavonoides se subdividen en flavonas, flavonoles, flavanonas y flavanoles dependiendo de la presencia de un carbono carbonilo en C4, un grupo OH en C3, un enlace simple saturado entre C2 y C3, y una combinación de carbonilo en C4 con un grupo OH en C3, respectivamente. En mayor cantidad están presentes las flavonas apigenina y luteolina (Serreli and Deiana, 2020).
- Ácidos fenólicos: se encuentran en pequeñas proporciones, divididos en dos subgrupos; derivados de los ácidos benzoicos (ácido benzoico, gálico y vanílico) y derivados de los ácidos cinámicos (cinámico, p-cumárico, cafeico y ferúlico). El ácido benzoico consta de un anillo bencénico con un grupo carboxilo (-COOH) unido a uno de los carbonos del anillo, sin embargo, el ácido gálico, aunque también tiene un anillo bencénico y un grupo carboxilo, presenta dos grupos hidroxilo (-OH) unidos a diferentes carbonos del anillo, mientras que el vanílico incluye un grupo metoxi (-OCH<sub>3</sub>). Por su parte, los ácidos cinámicos muestran en su estructura un anillo bencénico unido a una cadena lateral alifática, por ejemplo, el ácido cinámico contiene un doble enlace y un grupo carboxilo unidos a uno de los carbonos de la cadena lateral, a diferencia del ácido p-cumárico que incluye un grupo metoxi (Romani et al., 2019).

- Lignanos: tienen una estructura más compleja, compuesta por dos unidades fenólicas unidas por un enlace éter, siendo los más representativos el acetoxipinoresinol y el pinoresinol, cuya estructura química se diferencia en la presencia de un grupo acetoxi (O-CO-CH<sub>3</sub>) en uno de los extremos de la molécula de acetoxipinoresinol, aumentando su solubilidad y biodisponibilidad (Romani et al., 2019).

**FIGURA 3. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS PRINCIPALES POLIFENOLES**



Fuente: Tomado de (Sánchez & D Mesa, 2018).

Los polifenoles son muy conocidos por sus propiedades antioxidantes, ayudando a proteger las células del organismo contra el daño oxidativo causado por los radicales libres, y antiinflamatorias, y han generado un interés notable en estos últimos años. Se ha demostrado que pueden tener numerosos efectos beneficiosos para la salud, como la reducción del riesgo de enfermedades crónicas, incluyendo enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes. Además, muestran actividad hipotensora, hipoglucemiante, neuroprotectora, antitumoral y antimicrobiana, ejerciendo una acción inhibidora contra diversas cepas bacterianas patógenas (Medina et al., 2016). Los principales compuestos fenólicos del aceite de oliva virgen extra son la

oleuropeína (OLE) y el hidroxitirosol (HT), con una estructura común que contribuye a todas las funciones beneficiosas mencionadas anteriormente. HT es generalmente reconocido como seguro (GRAS) por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), mientras que OLE está incluido en las recomendaciones de consumo diario de EFSA, aunque no existe un estado GRAS oficial para su forma pura (Monteiro et al., 2021).

La oleuropeína se identifica como el compuesto fenólico predominante en la pulpa de las aceitunas y es la que determina el amargor característico de las aceitunas no procesadas. Durante la maduración del fruto, esta molécula se hidroliza dando lugar a diferentes productos, incluido HT, por lo que la concentración de oleuropeína se reduce a medida que el fruto madura, y, simultáneamente, aumenta la de hidroxitirosol. Además, la oleuropeína se encuentra en grandes cantidades en las hojas y en el aceite de oliva virgen extra, siendo también responsable del amargor del AOVE. En las aceitunas de mesa, la variedad de aceituna y el proceso empleado para ser comestibles afectan al contenido de oleuropeína, mientras que, en la elaboración del aceite, hay varios factores como el tipo de fruto, el estado de maduración, las tecnologías de producción y extracción del aceite, que determinan el contenido final de oleuropeína en el aceite de oliva virgen (Barbaro et al., 2014).

El hidroxitirosol, por su parte, es un metabolito secundario de la planta derivado de la oleuropeína por hidrólisis enzimática, que se origina durante la maduración de las aceitunas, el almacenamiento del aceite y la preparación de las aceitunas de mesa. Este compuesto puede representar más del 14% del peso total del fruto del olivo, siendo responsable de la alta estabilidad del aceite (D'Archivio et al., 2022) y está presente en muchos productos de oliva, incluidas las aguas residuales de la almazara, un subproducto muy rico en HT generado en grandes cantidades por las industrias del aceite de oliva. Su contenido puede diferir significativamente entre las distintas variedades de aceitunas (Medina et al., 2016).

Un estudio informa que, según una base de datos, el contenido medio de OLE es desde 0,17 mg/100g para el aceite de oliva virgen extra, mientras que el contenido

medio de HT en aceites de oliva vírgenes extra está en torno a 7,7 mg/100g (Monteiro et al., 2021).

Gracias a los múltiples efectos positivos que tiene en la salud, se recomienda una ingesta equilibrada con alimentos ricos en polifenoles, como el AOVE, ayudando a prevenir enfermedades crónicas (Gorzynik et al., 2018). De hecho, la recomendación diaria específica para la ingesta de polifenoles está en torno a 1 g por día en adultos (aunque oscila entre 0,1-1 g), siendo 10 veces mayor que la ingesta de vitamina C, e incluso 100 veces mayor que la de vitamina E y carotenoides (Wang et al., 2022).

## 1.2. MICROBIOTA INTESTINAL

El concepto de ‘microbiota intestinal’ hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos que habitan el tubo digestivo; incluyendo bacterias, hongos, arqueas, virus y protozoos, y es fundamental para el crecimiento adecuado del organismo, el desarrollo de la inmunidad y la nutrición. Este término no se debe confundir con ‘microbioma’, que alude al conjunto de microorganismos, sus genes y metabolitos (Icaza, 2013).

El tracto gastrointestinal (GI) humano está habitado por aproximadamente  $10^{14}$  bacterias metabólicamente activas y se estima que hay 10 veces más bacterias que células humanas (y más de 100 veces la diversidad genética) (Costa and Silva, 2022). En la microbiota intestinal destacan principalmente dos filos bacterianos: Firmicutes y Bacteroidetes (ambos representan el 90%), aunque podemos encontrar otros filos como Actinobacteria (5%), Proteobacteria y Verrucomicrobia. A pesar de la alta variabilidad interindividual, Firmicutes (64%) es el filo más diversificado representado en humanos y roedores, por más de 250 géneros, entre los que destacan *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* y *Ruminococcus*. Por otro lado, el filo Bacteroidetes (23%) agrupa cerca de 20 géneros, siendo *Bacteroides* el más representado, seguido de *Prevotella*. El filo Actinobacteria incluye el género *Bifidobacterium* del cual se han identificado muchos probióticos y por último el filo Verrucomicrobia que incluye el género *Akkermansia*, presente en baja proporción (3-5%) (Plamada and Vodnar, 2022).

De cualquier forma, la colonización de microorganismos ocurre rápidamente tras el nacimiento. Durante las primeras etapas del desarrollo, se produce una pequeña diversidad, que va aumentando en complejidad con el paso del tiempo (entre 3 y 5 años). Esto permanece relativamente estable durante la edad adulta (salvo enfermedades). Finalmente, cambia de nuevo con la vejez (> 65 años), como consecuencia del deterioro de la salud. Se estima que en un adulto hay alrededor de 160 especies de bacterias distintas (valor estimado por persona y muestra fecal) que componen el ecosistema microbiano (Costa and Silva, 2022).

### 1.2.1. Funciones de la microbiota

La gran y diversa comunidad microbiana contribuye al metabolismo humano, participando en el metabolismo de los carbohidratos, las proteínas, los ácidos biliares, los fitoquímicos y los polifenoles vegetales de la dieta, así como en la síntesis de aminoácidos esenciales y vitaminas. La microbiota intestinal, si bien presenta una gran diversidad entre individuos, ejerce funciones específicas no solo en el metabolismo de nutrientes del huésped, sino también en el mantenimiento de la integridad estructural de la barrera mucosa intestinal, la inmunomodulación (desarrollando, estimulando y modulando el sistema inmune), el metabolismo de xenobióticos y fármacos, y la protección frente a la colonización e invasión de patógenos (D'Archivio et al., 2022).

Los microorganismos que constituyen la microbiota son de gran relevancia para un funcionamiento adecuado del organismo. De hecho, los mamíferos que se desarrollan libres de gérmenes (LG) muestran un desarrollo anormal del cuerpo, con una pared intestinal atrofiada, corazón, pulmones e hígado de menor peso y un sistema inmune inmaduro, con un número reducido de inmunoglobulinas. Asimismo, en un estudio se observó que un grupo de ratones normales (con microbiota intestinal) tenía un 40% más de grasa que otros libres de gérmenes con la misma dieta y no presentando estos ratones LG obesidad, cuando se le trasplantaba la microbiota de ratones normales, aumentaban su grasa corporal. En conclusión, la

dieta no es suficiente para producir obesidad, sino que son necesarios los microorganismos que constituyen la microbiota (Icaza, 2013).

### 1.2.2. Factores que afectan a la microbiota

Entre los aspectos que pueden influir en la microbiota, la dieta sigue siendo el principal determinante, ya que puede cambiar hasta el 60% de la composición microbiana, así como su diversidad y riqueza. Por lo general, una ingesta rica en frutas, verduras y fibras como la dieta mediterránea, muestra un efecto beneficioso en la composición de la microbiota intestinal. Por el contrario, las dietas altas en grasas alteran la microbiota mostrando un impacto negativo en la relación Bacteroides/Firmicutes (Merra et al., 2020).

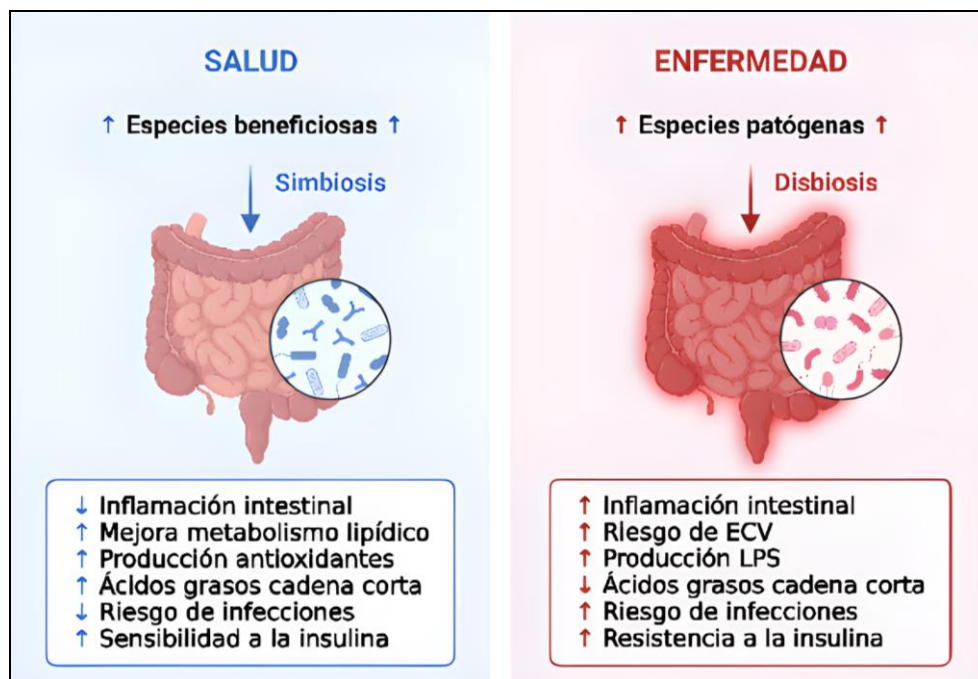
Además, otros factores como la genética, el estrés (ansiedad y depresión), la administración de antibióticos, el tipo de nacimiento (cesárea o parto) o alimentación (fórmula o seno materno) pueden reflejar cambios en la diversidad y composición microbiana. Por ejemplo, en la microbiota de los bebés nacidos por cesárea predominan los géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*, a diferencia de los nacidos por vía vaginal, donde predominan *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Prevotella*. Asimismo, los bebés alimentados con leche materna muestran mayor cantidad de microorganismos con efectos beneficiosos (como *Bifidobacterium*) que los alimentados con leche de fórmula (Bhattarai et al., 2017).

### 1.2.3. Enfermedades relacionadas con la microbiota

La microbiota está relacionada con la salud y la enfermedad. La gran parte de sus componentes son inocuos o beneficiosos para la salud humana, aunque otros pueden ser perjudiciales y provocar la ruptura del equilibrio (Plamada and Vodnar, 2022). Cuando su composición es la adecuada, interactúa adecuadamente con el organismo estableciendo una simbiosis. De lo contrario, cuando hay un desequilibrio se produce lo que llamamos disbiosis de la microbiota intestinal, propiciando la aparición de enfermedades como alergias, asma, obesidad, diabetes, esteatohepatitis no alcohólica, Alzheimer, Parkinson, enfermedades inflamatorias

crónicas, y, aunque las interacciones entre el cáncer y la microbiota no se conoce en profundidad, se sabe que estos microbios están implicados en un 20% de los tumores malignos (Valdés et al., 2018). La base de datos ‘Disbiome’ (<https://disbiome.ugent.be>) recoge estudios sobre la relación microbiota-enfermedad para más de 300 enfermedades diferentes (Álvarez et al., 2021).

**FIGURA 4. PAPEL DE LA MICROBIOTA EN LA SALUD Y EN LA ENFERMEDAD**



Fuente: Tomado de Biorender.com (2023).

Los estudios científicos indican que la disbiosis microbiana participa en el desarrollo de la diabetes tipo 2 y la obesidad. Esto se basa en el hecho de que los genes microbianos que se detectan en personas obesas son inferiores al de personas sanas, lo que sugiere una diversidad bacteriana menor. En los últimos años, también se han vinculado diversas enfermedades del campo de la Salud Mental con un desequilibrio en el eje microbiota-intestino-cerebro. Pero, además de contribuir al mantenimiento de las funciones del cerebro, la microbiota puede afectar también al desarrollo de trastornos psicológicos y neurológicos, incluyendo afecciones asociadas con el estrés, como la ansiedad y la depresión (Álvarez et al., 2021).

En general, el estado de disbiosis se caracteriza por la pérdida de microorganismos beneficiosos (que suelen ser predominantes) y por el incremento de aquellas menos abundantes que, con frecuencia, incluyen patógenos. En este sentido, en los trastornos inflamatorios del intestino frecuentemente se observa una reducción de bacterias como *Faecalibacterium*, *Roseburia* y *Eubacterium* que, puede coincidir con el incremento de especies oportunistas, entre ellas, *Clostridium difficile* (Álvarez et al., 2021). Además, se ha demostrado que sujetos afectados por el síndrome del colon irritable mostraron un aumento de la relación *Firmicutes/Bacteroidetes* y una reducción de las especies beneficiosas *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* spp., en comparación con los controles sanos (Icaza, 2013). No obstante, la microbiota intestinal alterada se puede mejorar utilizando diferentes estrategias: prebióticos, probióticos, simbióticos o trasplantes de microbiota fecal (Álvarez et al., 2021).

## **2. OBJETIVOS**

Esta revisión tiene como objetivo principal determinar los beneficios de los polifenoles del aceite de oliva virgen extra en la salud, centrándose en su interacción con la microbiota intestinal. Destacando los siguientes objetivos específicos:

- Protección frente a enfermedades cardiovasculares y obesidad.
- Actividad antidiabética y reducción de la presión arterial.
- Protección frente a enfermedades neurodegenerativas.
- Actividad anticancerígena.
- Actividad antimicrobiana y antiviral.
- Protección frente a enfermedades cutáneas.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar, para llevar a cabo esta revisión, se establecieron los conceptos fundamentales relacionados con el tema del trabajo, resultando en una lista que abarca los siguientes términos: antimicrobial (antimicrobiano), bacterium (bacteria), benefits (beneficios), diseases (enfermedades), EVOO (AOVE), gut microbiota (microbiota intestinal), health (salud), phenolic compounds (compuestos fenólicos) and polyphenols (polifenoles).

Utilizando estas palabras clave, se limitó la búsqueda a las siguientes plataformas: Google Scholar Academic, PubMed y Web Of Science. Se clasificaron los resultados de la búsqueda por orden de relevancia, para obtener todos los artículos disponibles abarcando toda la historia y considerando estudios previos interesantes. El intervalo de tiempo establecido en la búsqueda abarca desde 2018 hasta la actualidad, garantizando así una bibliografía actualizada sobre los últimos cinco años.

La selección de los estudios se realizó manual y cuidadosamente, evaluando la importancia del tema en cada caso. Se prestó especial atención a los nuevos descubrimientos sobre los polifenoles del aceite de oliva virgen extra, incluyendo sus actividades biológicas y modos de acción sobre los microorganismos intestinales. En general, se ha procurado que los estudios que componen el trabajo sean lo más actuales posibles, debido a que la información puede estar sujeta a cambios con el paso del tiempo, aunque en algún caso necesario se ha incluido bibliografía antigua, la cual se eligió minuciosamente por ser relevante al tema en cuestión.

De acuerdo con la información encontrada, se escogieron 36 trabajos para elaborar unos resultados que incluyen los aspectos fundamentales y permiten abordar el objetivo de este estudio, y a partir de ahí, se obtuvieron las conclusiones, completando así este informe.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. BENEFICIOS DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE EN LA SALUD

El primer estudio que demostró las propiedades cardioprotectoras y los beneficios para la salud de la dieta mediterránea fue el Estudio de Siete Países realizado a mediados del siglo 20 (Menotti and Puddu, 2015). El aceite de oliva virgen extra ha sido considerado como el elemento distintivo de este patrón alimentario. Desde entonces, numerosas investigaciones observacionales y epidemiológicas han puesto de manifiesto las ventajas del consumo de AOVE en la salud (Jiménez et al., 2020). A pesar de que la proporción de la fracción fenólica hidrófila o polifenoles en la composición del aceite es reducida en comparación con otros compuestos, esta juega un rol fundamental en los múltiples beneficios para la salud humana que se atribuyen al AOVE (Serreli and Deiana, 2018).

En un principio, los efectos favorables en la salud se atribuyeron a la alta concentración de ácido oleico, el ácido graso monoinsaturado más abundante en el aceite de oliva. No obstante, con el tiempo, las ventajas del AOVE se han atribuido al contenido de compuestos fenólicos, que ejercen efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, antivirales, antiaterogénicos, hipoglucemiantes, hepáticos, cardíacos, neuroprotectores, antialérgicos y anticancerígenos, ya que disminuyen el conjunto de especies reactivas de oxígeno (ROS) y neutralizan los metabolitos potencialmente cancerígenos (Figura 14) (Barbaro et al., 2014).

En 2011, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) aprobó ciertas declaraciones notificadas por el Reglamento nº 432/2012 de la Comisión relativas a las ventajas de los compuestos bioactivos presentes en los alimentos, incluyendo los fenoles del AOVE y, en particular, de hidroxitirosol y oleuropeína, lo que respalda su función esencial para la salud humana. Los efectos sobre la salud son la protección del LDL contra el daño oxidativo, la regulación de los niveles adecuados de colesterol HDL en sangre, el mantenimiento de la presión arterial normal, las propiedades antiinflamatorias, la contribución a la salud del tracto respiratorio superior, el mantenimiento de la función normal del tracto gastrointestinal y la

participación en las defensas del cuerpo contra los agentes externos. Según la EFSA, estos beneficios se consiguen alcanzar con una dosis de 20 g de AOVE al día, que incluye 5 mg de HT y sus análogos (Romani et al., 2019).

#### 4.1.1. Protección frente a enfermedades cardiovasculares y obesidad

Son numerosos los estudios que corroboran el papel de los polifenoles presentes en el aceite de oliva virgen extra para prevenir las enfermedades cardiovasculares y la obesidad. Entre ellos, se confirman estos datos en el siguiente trabajo, escogido por su minuciosidad y relevancia para el tema en cuestión:

**TABLA 2. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL PAPEL CARDIOPROTECTOR DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
'Health Effects of Phenolic Compounds Found in Extra-Virgin Olive Oil, By-Products, and Leaf of Olea europaea L', Romani et al., 2019.	Se evaluaron en 200 sujetos masculinos sanos los efectos del contenido de fenol del aceite de oliva con respecto al estrés oxidativo de los lípidos y los niveles de lípidos plasmáticos. Los sujetos tomaron 25 ml de aceite al día durante 3 semanas, y fueron divididos al azar en tres grupos: aceite de oliva bajo en fenol (2,7 mg / kg de aceite de oliva), aceite de oliva de fenol medio (164 mg / kg de aceite de oliva) y aceite de oliva alto en fenol (666 mg / kg de aceite de oliva). Los resultados indicaron que los biomarcadores de estrés oxidativo descendieron de forma proporcional al nivel de fenol, mientras que los niveles de colesterol HDL ('el bueno') aumentaron directamente al contenido de fenol del aceite de oliva. Estos hechos confirmaron que la cantidad de polifenoles influye en la mejora del deterioro oxidativo de los lípidos y del perfil lipídico.

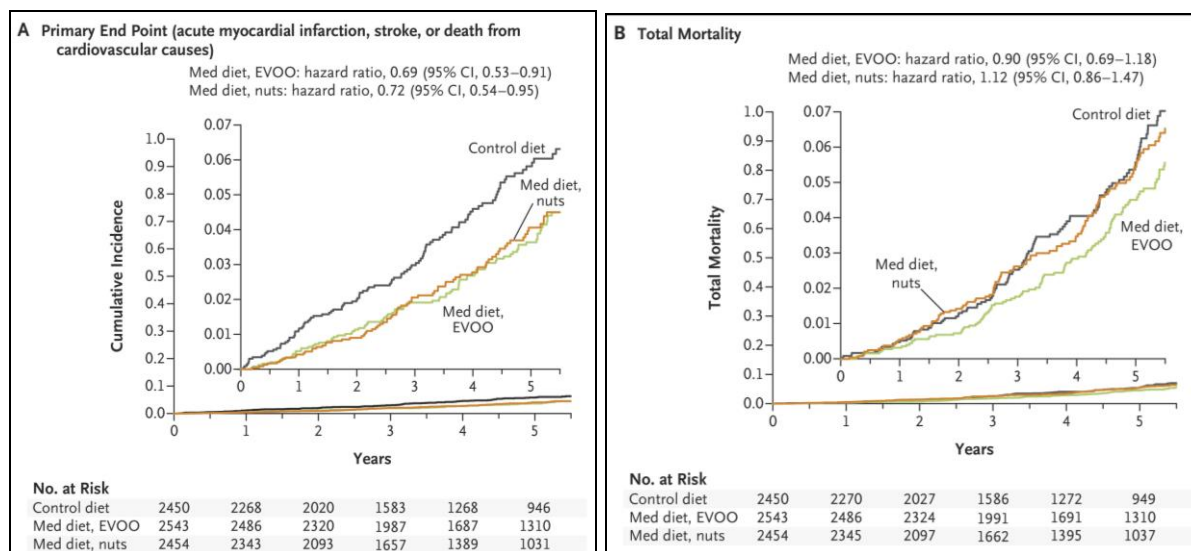
Por otro lado, se presentó en el año 2013 el estudio **PREDIMED** (Prevención con Dieta Mediterránea), diseñado como un ensayo aleatorizado, multicéntrico y de grupos paralelos, realizado en España durante el periodo 2003-2013, en el cual se analizaron 7.447 individuos (57% mujeres, 43% hombres) asignados aleatoriamente a un tipo de dieta: dieta control (baja en grasas), dieta mediterránea enriquecida con AOVE (1 litro/semana) o dieta mediterránea complementada con frutos secos (30 g/día, incluyendo 15 g de nueces, 7,5 g de avellanas y 7,5 g de almendras). Los miembros elegidos eran hombres (55 a 80 años) o mujeres (60 a 80 años) de la

población mediterránea sin enfermedad cardiovascular en el momento de la inscripción, que tenían diabetes mellitus tipo 2 o como mínimo tres de estos factores esenciales de riesgo: tabaquismo, hipertensión, altos niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad, niveles reducidos de colesterol de lipoproteínas de alta densidad, sobrepeso u obesidad, o antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura. El objetivo de este gran ensayo clínico fue valorar la efectividad de la dieta mediterránea para prevenir y/o disminuir las distintas enfermedades (Estruch et al., 2018). Entre los diversos ensayos que se realizaron basados en la cohorte PREDIMED, se muestran algunos de ellos escogidos por la relevancia de los datos obtenidos:

**TABLA 3. TRABAJOS DE PREDIMED SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL PAPEL CARDIOPROTECTOR DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<b>'Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts', Estruch et al., 2018.</b>	Los resultados indicaron una disminución en la incidencia de eventos cardiovasculares para el grupo asignado al aceite de oliva virgen extra, seguido del grupo tratado con nueces, en comparación con la dieta control. Además, el riesgo de mortalidad se redujo significativamente en los pacientes que incluyeron AOVE en su dieta <b>(Figura 5)</b> .
<b>'Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study', Guasch et al., 2014.</b>	Los resultados señalaron una reducción del riesgo de ECV del 35% para el grupo de personas que consumieron aceite de oliva y del 39% para los que tomaron aceite de oliva virgen extra, y el riesgo de mortalidad en ambos disminuyó un 48%, en comparación al resto. Por otro lado, se observó que, por cada aumento de 10 g al día de AOVE, la enfermedad cardiovascular y el riesgo de mortalidad se redujeron en un 10% y 7%, respectivamente.

## FIGURA 5. INCIDENCIA DE ECV Y MORTALIDAD EN LA POBLACIÓN ENSAYADA



La imagen A (izquierda) muestra la incidencia de infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular y muerte por causas cardiovasculares. La imagen B (derecha) muestra la mortalidad total. Control diet; dieta control, Med Diet; dieta mediterránea, Nuts; nueces y EVOO; AOVE. Fuente: Tomado de (Estruch et al., 2018).

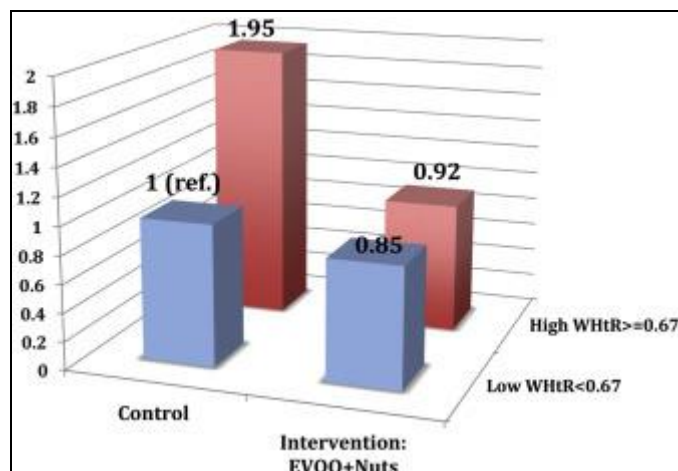
Hasta el momento, las evidencias de PREDIMED constituyen la prueba de que una dieta equilibrada, como es la conocida dieta mediterránea propia de nuestra región, provista de aceite de oliva virgen extra, además de mejorar parámetros biológicos, atenúa la probabilidad de padecer una enfermedad potencialmente mortal, lo que implica darle más años a la vida y más vida a los años (Romani et al., 2019).

En lo que respecta a la obesidad, esta contribuye a producir un estado de inflamación de bajo grado que aumenta el riesgo cardiovascular, y, por tanto, podría conducir a un mayor riesgo de eventos cardiovasculares. Las conclusiones de diversos análisis revelan que el seguimiento de una dieta mediterránea (MedDiet) abundante en aceite de oliva disminuye la incidencia de obesidad, entre otros, este efecto fue corroborado en los siguientes trabajos, seleccionados debido al tamaño de muestra y a la importancia de sus resultados:

**TABLA 4. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL EFECTO ANTIPOBESIDAD DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<p><b>'La dieta mediterránea y su impacto en la enfermedad cardiovascular', Gómez et al., 2014.</b></p>	<p>Las conclusiones de este estudio, tras analizar un total de 500.000 sujetos de diferentes países europeos, revelaron que la MedDiet se asociaba de forma inversa con el perímetro de cintura. Por otra parte, el consumo de AOVE se relacionó con una reducción del 10% en el riesgo de padecer sobrepeso u obesidad y una disminución del peso medio de 0,16 kg.</p>
<p><b>'Evolving Interplay Between Dietary Polyphenols and Gut Microbiota, An Emerging Importance in Healthcare', Ray and Mukherjee, 2021.</b></p>	<p>Los datos apuntaron que los pacientes con obesidad tipo 1 tratados con un suplemento de polifenoles (370 mg totales) mostraban una pérdida de peso, disminución del índice de masa corporal (IMC) y circunferencia de cintura y cadera.</p>
<p><b>'Effect of virgin and refined olive oil consumption on gut microbiota. Comparison to butter', Hidalgo et al., 2014.</b></p>	<p>Los autores, tras comparar el efecto del aceite de oliva virgen extra con la mantequilla sobre el microbiota intestinal, observaron que la mantequilla en los recuentos microbianos tenía parecido con los ratones obesos, mientras que el AOVE estaba en el lado opuesto.</p>
<p><b>'Dietary Polyphenol, Gut Microbiota, and Health Benefits', Wang et al., 2022.</b></p>	<p>Los resultados obtenidos in vitro demostraron que los polifenoles en la microbiota intestinal regulan la proporción Firmicutes/Bacteroides, relacionada con el peso corporal, siendo más elevada en pacientes obesos.</p>
<p><b>'Does the Mediterranean diet counteract the adverse effects of abdominal adiposity?', Eguaras et al., 2015.</b></p>	<p>Se manifestó un mayor riesgo de eventos de ECV (infarto de miocardio, accidente cerebrovascular o muerte cardiovascular) en el grupo de dieta control, pero no en los dos grupos asignados a la intervención con MedDiet (<b>Figura 6</b>). Este hecho sugirió que la dieta mediterránea contrarresta los efectos cardiovasculares perjudiciales de la adiposidad abdominal (el tipo de obesidad reconocido más dañino), así como el índice de masa corporal y el perímetro de cintura.</p>

**FIGURA 6. RELACIÓN CINTURA-ALTURA BASAL Y ECV**



Cocientes de riesgo multivariados ajustados de enfermedad cardiovascular según la clasificación conjunta por intervención y la relación cintura-altura basal (WHtR). WHtR: Relación cintura-altura (cintura [cm]/altura [cm]). EVOO: Aceite de Oliva Virgen Extra (Intervención con dieta mediterránea y suministro de aceite de oliva virgen extra). Nuts: Intervención con dieta mediterránea y suministro de frutos secos mixtos (nueces, avellanas y almendras). Fuente: Tomado de (Eguaras et al., 2015).

#### 4.1.2. Actividad antidiabética y reducción de la presión arterial

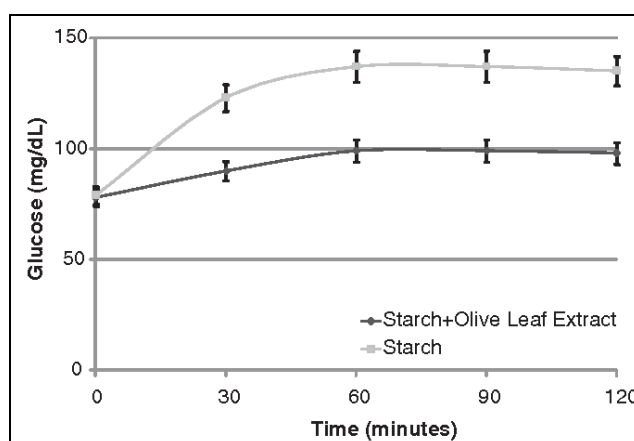
La ingesta de aceite de oliva virgen extra ha mostrado efectos positivos como estrategia para prevenir y controlar la diabetes, debido, en gran parte, al elevado contenido de compuestos fenólicos que contiene. Esta relación inversa entre MedDiet y diabetes ha sido demostrada en los siguientes ensayos, seleccionados especialmente debido a su carácter de larga duración:

**TABLA 5. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL EFECTO ANTIDIABÉTICO DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
'Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats', Wainstein et al., 2012.	En este ensayo de 79 participantes con diabetes mellitus 2 (DM2) se examinó la eficacia de 500 mg de extracto de hoja de olivo con alto contenido en polifenoles, administrado de forma oral una vez al día durante 12 semanas. Los resultados revelaron niveles significativamente más bajos de insulina en plasma para los sujetos administrados con extracto de hoja de olivo, lo que plantea el uso del AOVE como posible terapia para reducir la glucosa en pacientes diabéticos ( <b>Figura 7</b> ).
'Reduction in the	Este estudio aleatorizado, procedente del proyecto PREDIMED,

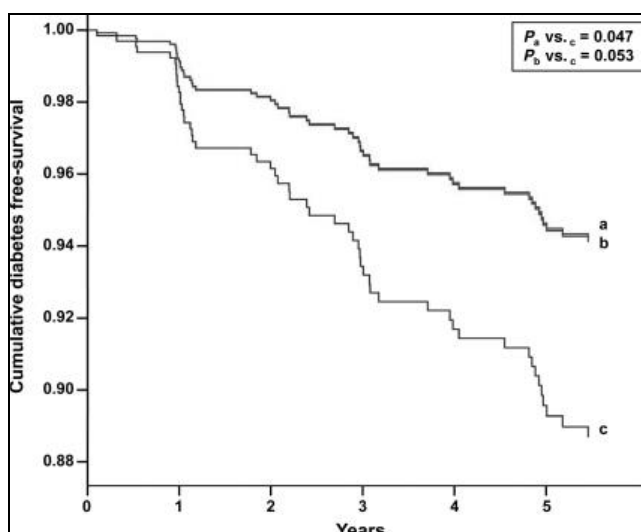
<p>incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial', Salas-Salvadó et al., 2011.</p>	<p>realizado en 418 sujetos no diabéticos, demostró tras 4 años de seguimiento que la incidencia de diabetes fue de 10,1%, 11,0% y 17,9% en el grupo MedDiet con AOVE, el grupo MedDiet con nueces y el grupo control, respectivamente (<b>Figura 8</b>). Cuando los dos grupos de MedDiet se agruparon, la incidencia de diabetes se contrajo en un 52%, por lo que concluyeron que la adherencia a la dieta mediterránea se correlacionó inversamente con la probabilidad de padecer diabetes.</p>
<p>'Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen', Sánchez &amp; D Mesa, 2018.</p>	<p>El aceite de oliva virgen redujo el riesgo de DM2 un 40% en individuos con alto riesgo cardiovascular, así como la glucosa plasmática en ayunas y mejoró la resistencia frente a la insulina y los biomarcadores inflamatorios en pacientes diabéticos. Por otro lado, la incorporación diaria de una dieta abundante en polifenoles (51,1 mg OLE y 9,7 mg HT) determinó la mejora de la actividad de la insulina y su liberación.</p>
<p>'Health Effects of Phenolic Compounds Found in Extra-Virgin Olive Oil, By-Products, and Leaf of Olea europaea L', Romani et al., 2019.</p>	<p>Un ensayo en hombres obesos de mediana edad con riesgo de desarrollar diabetes concluyó que la suplementación con polifenoles durante 12 semanas mejoró significativamente la sensibilidad a la insulina y la secreción de las células <math>\beta</math> pancreáticas.</p>

**FIGURA 7. MEDIDA DE LA GLUCOSA EN PACIENTES CON DM2**



La imagen muestra la medida de la glucosa (mg/dL) respecto al tiempo para el grupo control (Starch) y el grupo tratamiento con extracto de hoja de olivo con alto contenido polifenólico (Starch + Olive Leaf Extract). Fuente: Tomado de (Wainstein et al., 2012).

**FIGURA 8. RELACIÓN DIABETES Y DIETA MEDITERRÁNEA**



La imagen muestra la supervivencia libre acumulativa de diabetes por grupo de intervención con el paso de los años. a, MedDiet y grupo de aceite de oliva virgen; b, MedDiet y grupo de nueces; C: grupo de dieta de control. Fuente: Tomado de (Salas-Salvadó et al., 2011).

Los trabajos seleccionados demuestran que la información recopilada hasta la fecha es esperanzadora para los pacientes diabéticos, no obstante, aún se requieren más investigaciones clínicas que lo demuestren.

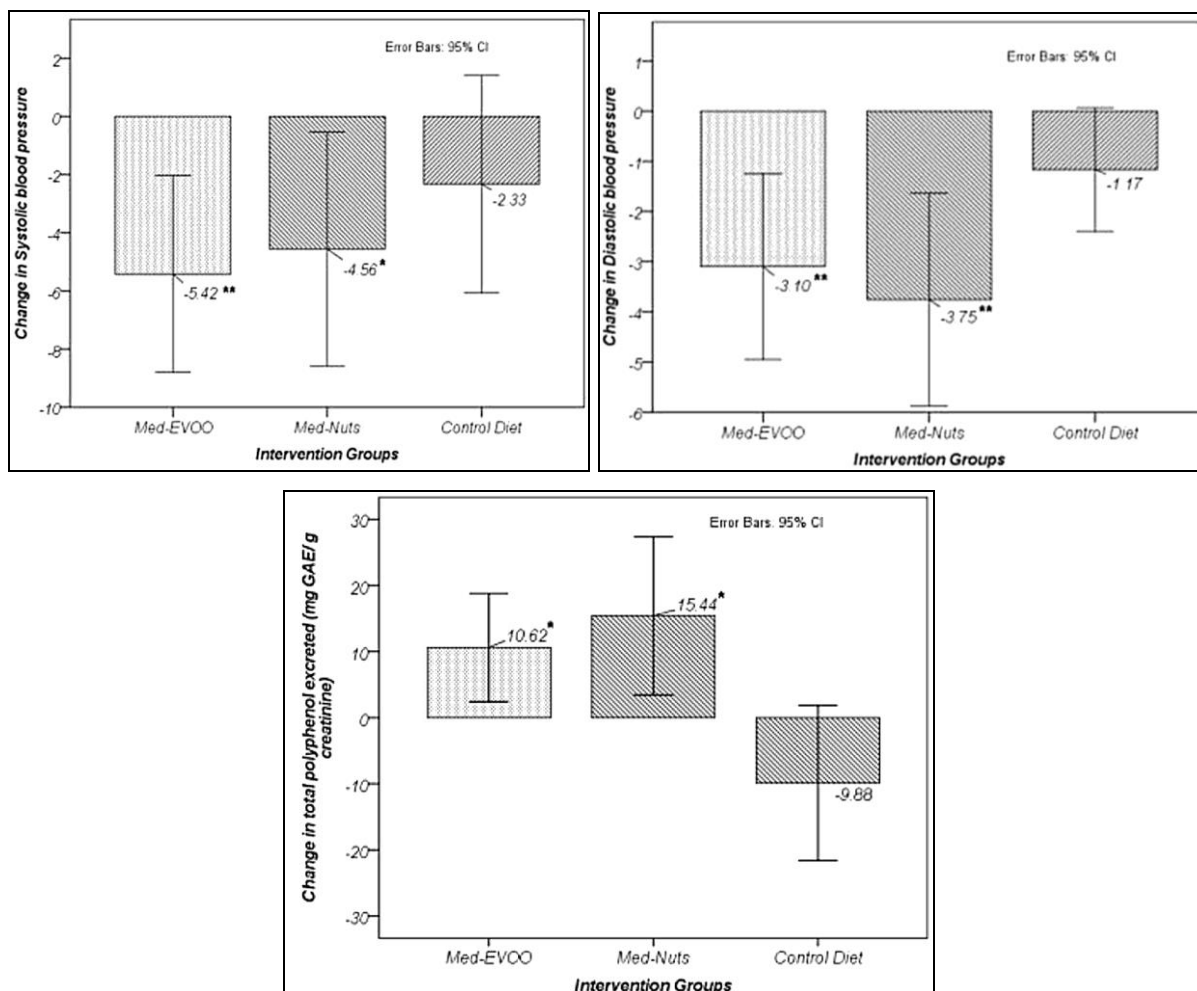
En este contexto, por otra parte, numerosas investigaciones corroboran que el consumo de aceite de oliva reduce la presión arterial sistólica y diastólica, y que esto, a su vez, pueden conllevar cambios en la microbiota intestinal. Entre ellos, cabe resaltar los siguientes estudios seleccionados por su elevada participación y minuciosidad:

**TABLA 6. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA RESPALDAR EL EFECTO ANTIHIPERTENSIVO DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<b>'Influence of a diet enriched with virgin olive oil or butter on mouse gut microbiota and its correlation to physiological and</b>	Prieto et al., demostraron en este ensayo de ratones alimentados con dieta estándar o dos dietas enriquecidas con AOVE o mantequilla durante 12 semanas, que, tras el consumo de mantequilla, se encontraron los valores más altos de presión arterial sistólica y peso, a diferencia del aceite de oliva virgen

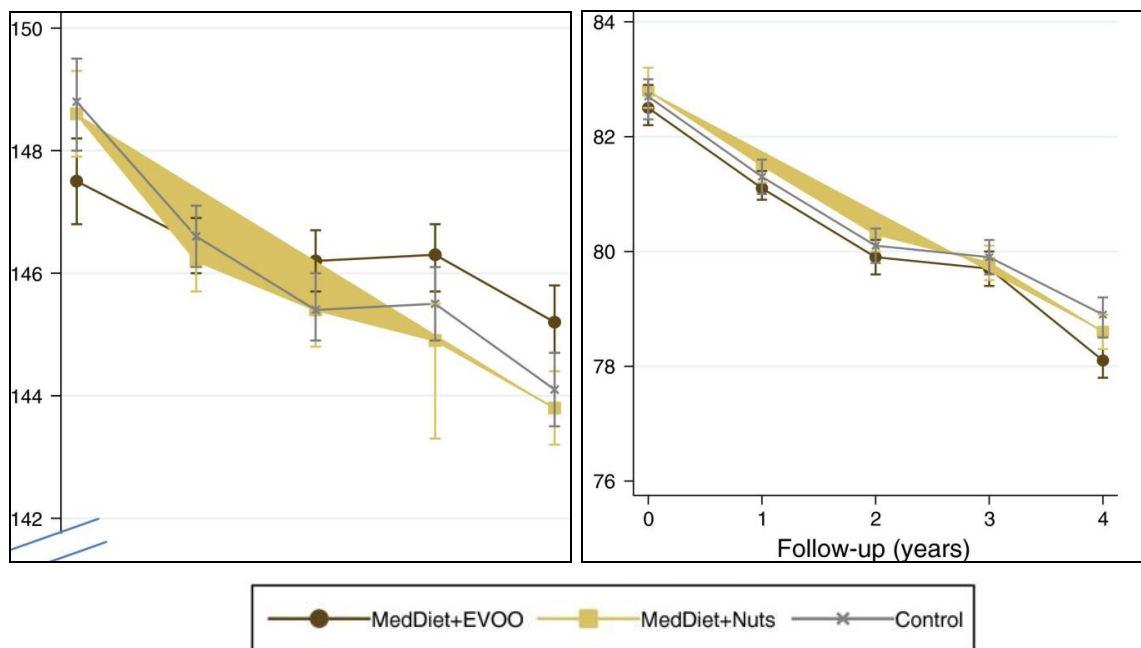
<p><b>biochemical parameters related to metabolic syndrome', Prieto et al., 2018.</b></p>	<p>extra, que mostró resultados similares a la dieta estándar.</p>
<p><b>'Effects of Olive Oil and Its Minor Components on Cardiovascular Diseases, Inflammation, and Gut Microbiota', Marcelino et al., 2019.</b></p>	<p>Los autores del estudio detectaron una reducción de la presión arterial diastólica en aquellas mujeres con sobrepeso que consumieron 25 ml de AOVE al día durante nueve semanas. Con respecto a la microbiota, el consumo de AOVE provocó un aumento de las especies probióticas <i>Lactobacillus</i> y <i>Bifidobacterium</i>, que degradan la oleuropeína, y una reducción de la cepa patógena <i>E.coli</i>.</p>
<p><b>'Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil', Jiménez et al., 2020.</b></p>	<p>Los resultados de este trabajo revelaron que las dietas enriquecidas con 10-50 ml al día de AOVE redujeron significativamente la presión arterial diastólica hasta 0,73 mmHg, valor que se halla dentro del rango de referencia.</p>
<p><b>'La dieta mediterránea y su impacto en la enfermedad cardiovascular', Gómez et al., 2014.</b></p>	<p>Los datos concluyeron un descenso medio de 3 y 2 mmHg en la presión sistólica y diastólica respectivamente, tras un seguimiento de 180 individuos a lo largo de 24 meses, contrastando una dieta mediterránea con una control. Se consideró la relevancia de la clase de grasa, destacando que el AOVE propiciaba la bajada de la presión arterial debido a los componentes minoritarios y a los ácidos grasos monoinsaturados.</p>
<p><b>'Effects of total dietary polyphenols on plasma nitric oxide and blood pressure in a high cardiovascular risk cohort. The PREDIMED randomized trial', Medina et al., 2015.</b></p>	<p>Medina et al., 2015 analizaron durante 1 año, en un total de 200 pacientes, el efecto de la intervención de dos dietas mediterráneas sobre la presión arterial. Tras el tratamiento con MedDiet, los resultados señalaron un descenso de la presión arterial sistólica y diastólica, asociándose con un aumento significativo de la excreción total de polifenoles (EPT). Se concluyó que los polifenoles podrían prevenir la hipertensión, y, en consecuencia, disminuir el riesgo cardiovascular (<b>Figura 9</b>).</p>
<p><b>'Effect of the Mediterranean diet on blood pressure in the PREDIMED trial: results from a randomized controlled trial', Toledo et al., 2013.</b></p>	<p>Los autores controlaron, durante 4 años, el nivel de la presión arterial (PA) en participantes del estudio PREDIMED. Los datos indicaron que aquellos asignados a la dieta mediterránea tenían una PA diastólica significativamente menor que los del grupo de control (-1,53 mmHg para los que tomaron AOVE y -0,65 mmHg para los que ingirieron frutos secos). Sin embargo, aunque se observaron reducciones significativas en la PA sistólica para los tres grupos, no se encontraron variaciones entre el grupo MedDiet+AOVE y el grupo control (<b>Figura 10</b>).</p>

**FIGURA 9. CAMBIOS EN PAS, PAD Y EPT, SEGÚN EL GRUPO DE INTERVENCIÓN**



La imagen A (izquierda) muestra la variación en la presión arterial sistólica (mmHg) para los tres grupos de intervención dietética. La imagen b. corresponde a la variación en la presión arterial diastólica (mmHg) para los tres grupos de intervención dietética. La imagen c. visualiza el cambio en la excreción total de polifenoles en muestras de orina para los tres grupos de intervención dietética. Med-EVOO; AOVE, Med-Nuts; nueces, Control Diet; dieta control. Fuente: Tomado de (Medina et al., 2015).

**FIGURA 10. PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA Y DIASTÓLICA, SEGÚN EL GRUPO DE INTERVENCIÓN**



La imagen muestra la presión arterial sistólica (izquierda) y diastólica (derecha) media ajustada al inicio y en las visitas anuales según el grupo de intervención. MedDiet+EVOO; AOVE, MedDiet+Nuts; nueces, Control; dieta control. Fuente: Tomado de (Toledo et al., 2013).

#### 4.1.3. Protección frente a enfermedades neurodegenerativas

El aumento global de la esperanza de vida conduce inevitablemente a un incremento consecuente en el total de individuos que serán afectados en algún grado por enfermedades relacionadas con las neurodegenerativas. En cambio, una dieta basada en aceite de oliva virgen extra parece contribuir a la disminución del riesgo de estas patologías, debido a la presencia de los fenoles que actúan como potentes antioxidantes (Salis et al., 2018). Entre los estudios relacionados con estas enfermedades, se destacan dos de ellos debido a su especial aportación al tema en cuestión:

**TABLA 7. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL EFECTO ANTINEURODEGENERATIVO DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<p><b>'Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen', Sánchez &amp; D Mesa, 2018.</b></p>	<p>Este trabajo señala que los trastornos neurodegenerativos se reconocen por estrés oxidativo, inflamación, agregación anormal de proteínas, desequilibrio de la homeostasis de calcio, excitotoxicidad y apoptosis, los cuales pueden ser mejorados tras la ingesta de AOVE. En modelos experimentales de Alzheimer, el consumo de aceite de oliva virgen rico en polifenoles actúa enriqueciendo el aprendizaje y la memoria, al revertir el daño oxidativo en el cerebro asociado con el envejecimiento, mientras que estudios en modelos celulares de Parkinson (la segunda enfermedad neurodegenerativa crónica más extendida en la sociedad actual), el tirosol, hidroxitirosol y oleuropeína pueden paliar el daño celular. Actualmente, se están realizando numerosos estudios debido a la necesidad de mayor número de ensayos in vivo.</p>
<p><b>'Olive Oil Polyphenols in Neurodegenerative Pathologies', Salis et al., 2018.</b></p>	<p>Salis et al., 2018 apuntan que los polifenoles pueden prevenir la formación de proteínas tóxicas, como las placas de beta-amiloide en el Alzheimer y las fibras de alfa-sinucleína en el Parkinson. También se ha demostrado la protección que ejercen en células nerviosas frente al daño oxidativo, evitando la apoptosis. La vinculación de tirosol con la proteína tirosinasa, asociada a la enfermedad de Parkinson, se destaca como paradigma de filiación entre polifenoles y trastornos neurodegenerativos. En definitiva, los beneficios de los componentes fenólicos frente al deterioro cognitivo y el desarrollo de estas enfermedades cada vez son más evidentes.</p>

**4.1.4. Actividad anticancerígena**

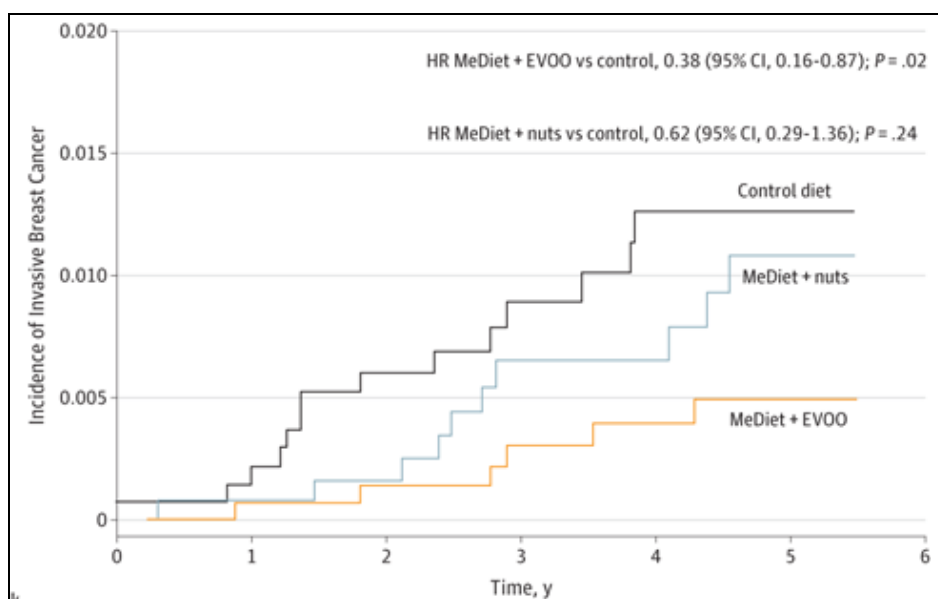
La evidencia de los estudios sugiere que la ingesta de aceite de oliva virgen extra muestra una relación inversa con el riesgo de tener cualquier tipo de cáncer (34% menos de probabilidad de padecer esta enfermedad) (Jiménez et al., 2020), incluidos el cáncer de colon, mama y piel. Su importancia en la prevención del cáncer puede atribuirse, en gran medida, a los compuestos fenólicos que contiene: hidroxitirosol, tirosol, oleuropeína y oleocantal, entre otros (Barbaro et al., 2014). Estos hechos han sido demostrados en los siguientes trabajos, algunos de ellos incluidos en el ensayo PREDIMED, designados por su interesante aportación y empleo de variados compuestos fenólicos:

**TABLA 8. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL EFECTO ANTICANCERÍGENO DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<p><b>'Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen', Sánchez &amp; D Mesa, 2018.</b></p>	<p>Una mayor adherencia a la MedDiet reduce el riesgo de mortalidad por cáncer, específicamente por cáncer colorrectal (17%), mama (7%), estómago (27%), próstata (4%), hígado (42%), cabeza y cuello (60%), páncreas (52%) y sistema respiratorio (90%). En modelos animales, la oleuropeína y el hidroxitirosol pueden suprimir las fases tempranas y posteriores del tumor, mientras que el oleocantal puede atenuar la expansión del tumor, la supervivencia celular y la formación de vasos sanguíneos. Finalmente, investigaciones clínicas en individuos saludables han revelado que el AOVE puede reducir los biomarcadores de daño del ADN, asociados con un mayor riesgo de cáncer.</p>
<p><b>'Mediterranean diet and invasive breast cancer risk among women at high cardiovascular risk in the PREDIMED trial: a randomized clinical trial', Toledo et al., 2015.</b></p>	<p>El cáncer de mama es la causa fundamental de cáncer en las mujeres, y se ha incrementado su frecuencia con el paso del tiempo a nivel mundial. En este estudio poblacional, procedente de PREDIMED, las mujeres asignadas a MedDiet + AOVE mostraron un riesgo relativamente menor, del 62% de cáncer de mama maligno, que las asignadas a la dieta control. Los participantes de MedDiet + nueces mostraron una reducción del riesgo no significativa en comparación con las mujeres de la dieta control. Cuando los dos tratamientos de MedDiet se fusionaron, observamos una reducción del riesgo relativo del 51% (<b>Figura 11</b>), por lo que se concluyó la asociación inversa entre aceite de oliva virgen extra y cáncer de mama.</p>
<p><b>'Anticancer potential of oleuropein, the polyphenol of olive oil, with 2-methoxyestradiol, separately or in combination, in human osteosarcoma cells', Przychodzen et al., 2019.</b></p>	<p>Se investigó la eficacia anticancerígena de la oleuropeína en células de osteosarcoma (SG), uno de los tumores óseos más comunes de la infancia y la adolescencia, altamente metastásico. Las células de SG humanas se incubaron con oleuropeína. Tras el ensayo, solo 24h de tratamiento a concentraciones de 250 µM, 125 µM, 62,5 µM inhibió significativamente la proliferación de células de OS en un 75%, 80% y 79%, respectivamente (<b>Figura 12 A</b>), y el tratamiento de 48h resultó en una potente inhibición del crecimiento celular de SG (<b>Figura 12 D</b>). Específicamente, oleuropeína utilizada en concentraciones de 250 µM, 125 µM, 31.25 µM, 15.6 µM, 7.8 µM, 3.9 µM, 1,9 µM y 1 µM inhibieron la proliferación de células de SG en 94%, 91%, 15%, 10%, 16%, 13%, 20% y 18%, respectivamente. Los datos concluyeron efectos antiproliferativos de la oleuropeína en células de osteosarcoma humanas, lo que sugiere un efecto anticancerígeno de este</p>

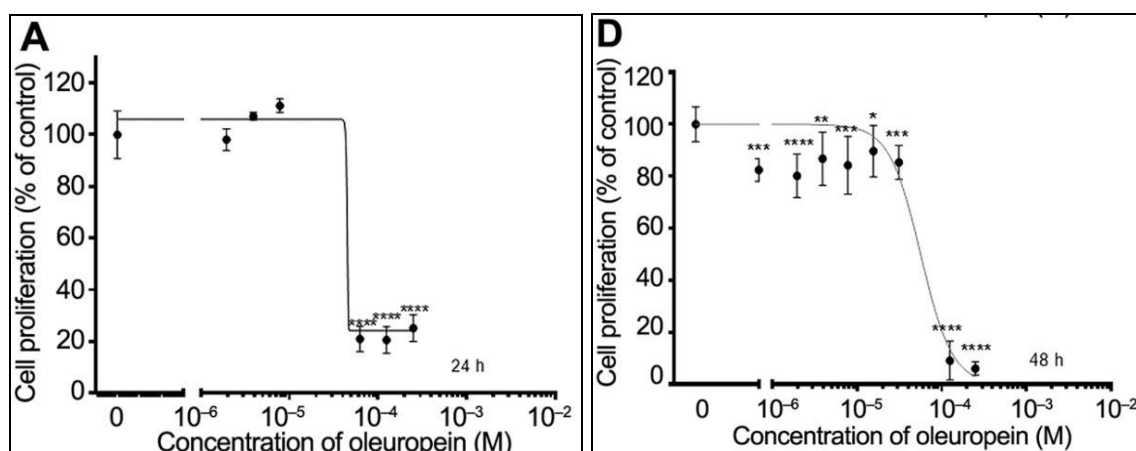
	polifenol en células altamente metastásicas.
<b>'Anti-proliferative effects of an extra-virgin olive oil extract enriched in ligstroside aglycone and oleocanthal on human liver cancer cell lines', De Stefanis et al., 2019.</b>	Se valoró los efectos de un extracto polifenólico con oleocanthal sobre la proliferación y/o muerte en dos tipos celulares de cáncer de hígado (HepG2 y Huh7). Las células de cáncer de hígado se incubaron durante 24-72 h con dos dosis diferentes del extracto fenólico: 4,81 µg/ml (AOVE1) y 9,62 µg/ml (AOVE2). Los resultados indicaron que el número de células se reducía por el extracto fenólico de una manera dependiente de la dosis y el tiempo. En particular, en las células HepG2, el AOVE1 indujo una reducción persistente del número de células ya evidente a las 24 h de tratamiento. El patrón fue aún peor en las células HepG2 expuestas al AOVE2, con un número de células comparable al tiempo 0 ( <b>Figura 13 A</b> ). Cualitativamente hablando, el número de células se redujo en Huh7 de manera similar a HepG2, aunque el efecto del AOVE1 apareció menos marcado en los primeros ( <b>Figura 13 B</b> ).

**FIGURA 11. INCIDENCIA DE CÁNCER DE MAMA INVASIVO, EN FUNCIÓN DEL TIPO DE INTERVENCIÓN DIETÉTICA**



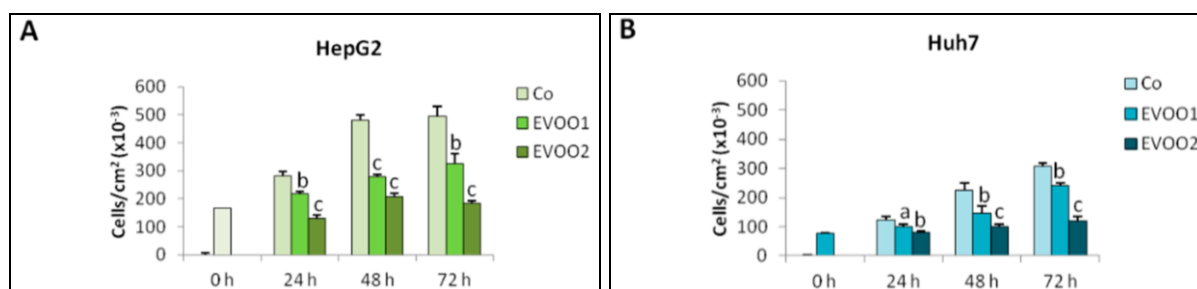
La imagen muestra la prevalencia de cáncer de mama en función del tiempo, para los tres grupos de tratamiento. Control diet; dieta control, MeDiet+nuts; nueces, MeDiet+EVOO; AOVE. Fuente: Tomado de (Toledo et al., 2015).

**FIGURA 12. PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÉLULAS DE OSTEOSARCOMA TRATADAS CON OLEUROPEÍNA**



Los ensayos evaluaron la proliferación de células de osteosarcoma después del tratamiento con oleuropeína a distintas concentraciones durante 24h (A, izquierda) y 48h (D, derecha). Fuente: Tomada de (Przychodzen et al., 2019).

**FIGURA 13. PROLIFERACIÓN CELULAR EN CÉLULAS CANCEROSAS DE HÍGADO TRATADAS CON OLEOCANTAL**



El extracto fenólico de oleocantal reduce la proliferación de células cancerosas del hígado. Co = control, EVOO1 = 4,81 µg/ml (AOVE1) y EVOO2 = 9,62 µg/ml (AOVE2). La imagen A (izquierda) muestra la proliferación de las células HepG2. La imagen B (derecha) muestra la proliferación de las células Huh7. Fuente: Tomado de (De Stefanis et al., 2019).

#### 4.1.5. Actividad antimicrobiana y antiviral

Desde hace tiempo, el aceite de oliva virgen extra se ha utilizado ampliamente para paliar patologías asociadas a microorganismos, principalmente bacterias y virus (Jiménez et al., 2020). Tales efectos beneficiosos son mencionados en los trabajos siguientes, elegidos por su eficacia contra numerosos tipos de microorganismos:

**TABLA 9. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL EFECTO ANTIMICROBIANO Y ANTIVIRAL DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<p><b>‘Evolving Interplay Between Dietary Polyphenols and Gut Microbiota, An Emerging Importance in Healthcare’, Ray and Mukherjee, 2021.</b></p>	<p>Este trabajo señala que los polifenoles y sus metabolitos influyen de forma positiva en la salud intestinal, ya que promueven la microbiota beneficiosa y controlan la propagación de patógenos, especialmente aquellos transmitidos por los alimentos, como <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Cronobacter sakazakii</i> y <i>Bacillus cereus</i>.</p>
<p><b>Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil’, Jiménez et al., 2020.</b></p>	<p>La oleuropeína y el hidroxitirosol, los principales polifenoles del AOVE, son eficaces contra numerosas cepas bacterianas y víricas, aunque también se ha detectado actividad antifúngica de los compuestos fenólicos (como el pinoresinol) contra distintas especies de hongos patógenos, entre ellos, <i>Fusarium verticillioides</i>, <i>Fusarium graminearum</i> y <i>Candida albicans</i>.</p>
<p><b>‘Polyphenols as promising biologically active substances for preventing SARS-CoV-2: A review with research evidence and underlying mechanisms,’ Mehany et al., 2021.</b></p>	<p>Los polifenoles pueden ser efectivos contra varios tipos de virus, incluyendo el virus de la gripe, herpes y hepatitis C. Recientemente se ha destacado la posible actividad antiviral de los polifenoles contra el virus SARS-CoV-2, ya que inhiben la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2), la molécula central para la recepción del virus en el organismo. También, la microbiota alterada puede provocar un aumento de ECA2, aumentando la susceptibilidad al virus.</p>

4.1.6. Protección frente a enfermedades cutáneas

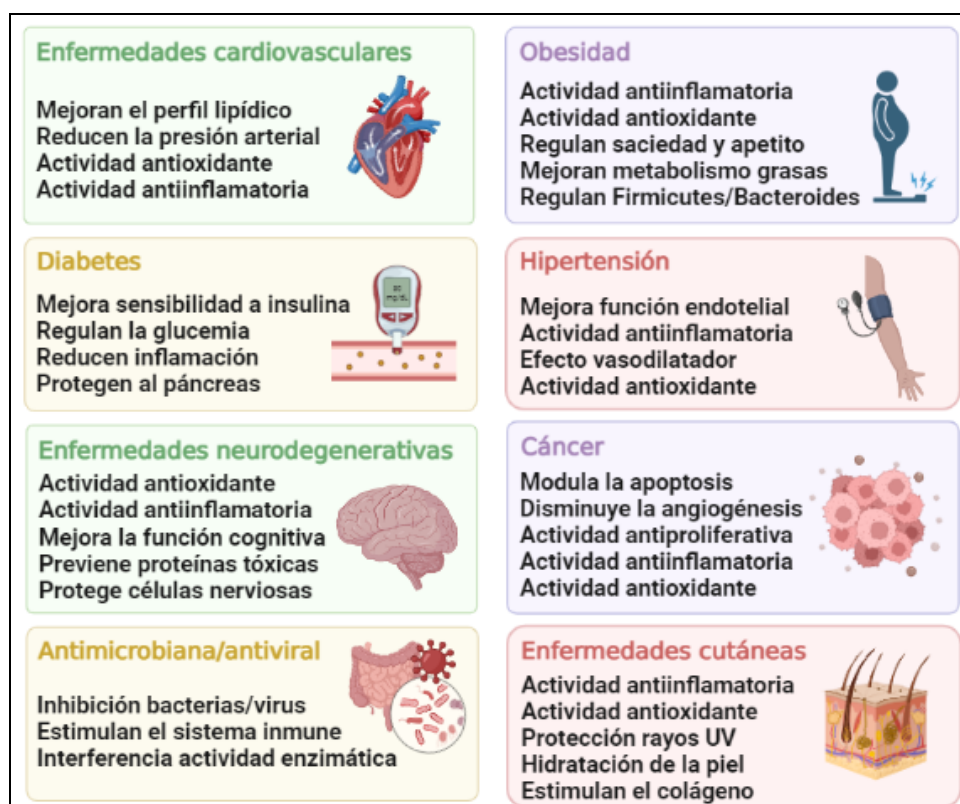
Durante miles de años, el aceite de oliva se ha utilizado con fines dermatológicos para el cuidado de la piel, y actualmente, se emplea en aplicaciones tópicas para el tratamiento de varias afecciones, que incluyen piel seca, picazón e inflamación, así como trastornos cutáneos (por ejemplo, la rosácea) (Badiu and Rajendram, 2021). Cabe destacar algunos estudios que relacionan el AOVE con estas patologías, seleccionados preferentemente por las conclusiones obtenidas en cada caso:

**TABLA 10. TRABAJOS SELECCIONADOS PARA JUSTIFICAR EL PAPEL  
PROTECTOR DE LA PIEL DE LOS POLIFENOLES DEL AOVE**

TÍTULO DEL TRABAJO	RESULTADOS/CONCLUSIONES
<b>'Olive oil in botanical cosmeceuticals. In Olives and olive oil in health and disease prevention', Baumann and Weisberg, 2010.</b>	Los resultados revelaron que los ratones tratados con aceite de oliva, mediante aplicación tópica, tras la exposición a los rayos UVB mostraron significativamente menos tumores de piel, en comparación con los controles. Por tanto, la aplicación tópica del AOVE puede retrasar y suprimir tumores cutáneos murinos causados por la exposición a los rayos UV. Por otro lado, en bebés prematuros sometidos a tratamiento cuatro semanas, se observó estadísticamente menos dermatitis en aquellos tratados con crema de aceite de oliva (70% lanolina, 30% aceite de oliva), en comparación con la crema emoliente (agua en aceite) y el control, con efectos beneficiosos duraderos durante todo el ensayo.
<b>'Anti-Inflammatory and Restorative Effects of Olives in Topical Application', Mahdiyeh and Leila, 2021.</b>	Los efectos del aceite de coco y el aceite de oliva virgen han sido demostrados en la dermatitis atópica, concluyendo que el 5% de los pacientes que utilizaron aceite de coco y el 50% de aquellos que emplearon aceite de oliva virgen redujeron los efectos de esta afección cutánea. Además, se registró una disminución en la frecuencia de úlceras por presión (necrosis de una parte de la piel) en el grupo que recibió aceite de oliva, en comparación con los grupos control o tratados con aceite de almendras.

En conclusión, son numerosas las investigaciones que demuestran los efectos saludables de los componentes fenólicos del AOVE, un elemento esencial en la dieta mediterránea, reduciendo la probabilidad de desarrollar numerosas afecciones (Figura 14). Recomendándose consumir aceite de oliva virgen extra en crudo (por ejemplo, en ensaladas, tostadas, etc.), ya que si se somete a altas temperaturas pierde gran parte de los componentes, entre ellos, los compuestos fenólicos, y como consecuencia, disminuyen los beneficios en la salud (Jiménez et al., 2020).

**FIGURA 14. PRINCIPALES MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS POLIFENOLES PARA DISMINUIR LA APARICIÓN DE NUMEROSAS PATOLOGÍAS**



La imagen muestra los procesos por los que los componentes fenólicos del aceite de oliva virgen extra mejoran las enfermedades mencionadas anteriormente y disminuyen el riesgo de padecer cada una de ellas. Fuente: Elaboración propia a partir de Sánchez & D Mesa (2018).

#### 4.2. RELACIÓN POLIFENOLES – MICROBIOTA: EFECTO DUPLIBIÓTICO

La microbiota intestinal contiene más de 1.000 especies bacterianas y, en menor medida, virus y arqueas, que contribuyen al control de la homeostasis del huésped, a la modulación de la digestión, el metabolismo y la inmunidad, y participan en la protección contra patógenos. En los últimos años, la interacción bidireccional entre los compuestos fenólicos (incluidos los del AOVE) y la microbiota intestinal ha atraído una atención creciente, es decir, los polifenoles pueden modular la composición microbiana intestinal, y al mismo tiempo, la microbiota mejora la biodisponibilidad de los polifenoles al transformarlos en metabolitos biodisponibles (D'Archivio et al., 2022).

#### 4.2.1. Impacto de la microbiota sobre los polifenoles

Se han desarrollado numerosas investigaciones que estudian el mecanismo por el cual se produce el efecto de la microbiota intestinal sobre las estructuras fenólicas, entre los cuales vamos a destacar uno de ellos debido a la claridad de la explicación y a la incorporación de imágenes que facilitan la comprensión:

- *'Impact of polyphenols on human gut microbiome and associated biomarkers. In Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes', Costa and Silva, 2022.*

Existen una amplia gama de compuestos fenólicos que se ingieren formando parte de una dieta saludable. Cuando llegan al colon, se someten a la acción del microbiota, que desempeña un papel relevante en la biotransformación de la mayoría de los polifenoles ingeridos, ya que las enzimas que secretan son capaces de hidrolizar numerosos compuestos. Esto produce la descomposición de las estructuras fenólicas en metabolitos de bajo peso molecular (incluyendo ácidos grasos de cadena corta, tales como el ácido acético, butírico y propiónico, que muestran efectos beneficiosos sobre la salud en general), los cuales pueden ser absorbidos o secretados en las heces. Por tanto, los microorganismos presentes en el intestino influyen en su biodisponibilidad y en la cantidad de polifenoles que llegan a la circulación sanguínea. A pesar de la gran variedad de bacterias que componen la microbiota intestinal, relativamente pocas especies son capaces de metabolizar los compuestos fenólicos; *Lactobacillus plantarum* es un claro ejemplo. Por tal razón, asumiendo que la disponibilidad de polifenoles en el organismo está mediada por el papel de la microbiota, podemos concluir que los efectos beneficiosos de dichos compuestos dependerán en gran medida de la composición microbiana en cada sujeto, con las implicaciones que esto conlleva a la hora de interpretar sus efectos beneficiosos.

#### 4.2.2. Impacto de los polifenoles en la microbiota

Hay evidencias que indican que los polifenoles de la dieta modulan la microbiota intestinal, aumentando los microorganismos beneficiosos (acción prebiótica) o

disminuyendo las especies dañinas (efecto antimicrobiano) presentes en ella, por tanto, estos son considerados antimicrobianos naturales frente a cepas Gram positivas y Gram negativas (Wang et al., 2022). Esto provoca efectos positivos en la salud, ya que una microbiota intestinal equilibrada se ha relacionado con una mejor digestión, una mejor absorción de nutrientes y una mayor inmunidad. De hecho, los siguientes estudios son un claro ejemplo de ello:

- *'Impact of polyphenols on human gut microbiome and associated biomarkers. In Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes', Costa and Silva, 2022.*

Se observó que la suplementación en la dieta con polifenoles resultó en una modulación positiva y promotora de la salud del ecosistema intestinal (es decir, un aumento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* y una disminución de las especies patógenas de *Clostridium*), lo que sugiere una dosis de suplementación de < 540 mg de polifenoles por día.

- *'Changes in Gut Microbiota Linked to a Reduction in Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats Fed an Extra Virgin Olive Oil-Enriched Diet', Hidalgo et al., 2018.*

Los polifenoles muestran un impacto en la composición y diversidad microbiana. De hecho, se investigaron los impactos del aceite de oliva virgen extra en la composición microbiana de modelos murinos con hipertensión espontánea, y, después de 12 semanas, las ratas alimentadas con una dieta enriquecida en AOVE mostraron diferencias significativas en el porcentaje de *Lactobacillus* y *Clostridium*, así como un aumento en la diversidad microbiana, en relación a las ratas que siguen un plan de alimentación estándar.

- *'Modulation of the Gut Microbiota by Olive Oil Phenolic Compounds: Implications for Lipid Metabolism, Immune System, and Obesity', Farràs et al., 2020.*

Dentro del género *Lactobacillus*, las especies parecen verse afectadas de manera diferente por el AOVE. Efectivamente, este análisis indicó que la ingesta diaria de HT, a la dosis de 50 mg/kg, influyó en la concentración de varias especies de

*Lactobacillus*, en concreto, incrementó las cepas *L. johnsonii* y redujo las especies *L. animalis*, *L. taiwanensis* y *Lactococcus*, que son microorganismos relacionados con la reducción de peso de los sujetos que reciben AOVE en su dieta.

Como se ha mencionado, la capacidad de estos compuestos para modular los microorganismos implica, por un lado, la estimulación de bacterias potencialmente beneficiosas para la salud, y, por otro lado, la inhibición de aquellas que son perjudiciales o patógenas. Este doble efecto se ha incluido en el siguiente estudio:

- *'Impact of polyphenols on human gut microbiome and associated biomarkers. In Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes', Costa and Silva, 2022.*

Los autores proponen el concepto de "duplibiótico", cuyo objetivo es describir compuestos capaces de promover una alteración positiva de la modificación genética al ejercer una presión tanto promotora como inhibidora del crecimiento en el ecosistema intestinal. Se ha demostrado este potencial *in vitro* cuando diferentes cepas probióticas podían crecer utilizando compuestos fenólicos como sustrato (en ausencia de una fuente alternativa de carbono) a una concentración que inhibiera las bacterias patógenas.

#### 4.2.2.1. Acción prebiótica

Los compuestos fenólicos se asocian con una biodisponibilidad relativamente baja, lo que ha llevado a ciertos autores a proponer que su efecto sobre la salud humana podría ser consecuencia de su relación con los microorganismos intestinales. Por tanto, si se considera la definición de prebiótico aprobada por la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos, en el que un prebiótico se define como 'aquella sustancia utilizada de forma selectiva por microorganismos huéspedes que resulta en un beneficio para la salud', los compuestos fenólicos pueden considerarse potencialmente como nuevos prebióticos (Costa and Silva, 2022). Sin embargo, las cepas intestinales probióticas son aquellos microorganismos vivos que brindan beneficios para la salud (Plamada and Vodnar, 2022), entre ellos, colaboran en el mantenimiento de la barrera intestinal mediante varios mecanismos,

como el aumento de la síntesis de mucina; reduciendo las citocinas proinflamatorias y las concentraciones de colesterol LDL (Marcelino et al. 2019).

Múltiples estudios han evidenciado que los polifenoles (incluidos los del AOVE) ejercen un efecto estimulante sobre las bacterias con funciones biológicas cruciales en el organismo, como las especies probióticas que pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*, con numerosos beneficios demostrados en la salud. De hecho, un estudio observó que la suplementación con polifenoles aumentó la abundancia de *Lactobacillus* en un 220% y de *Bifidobacterium* en un 56% (Wang et al., 2022). Aunque el término prebiótico se relaciona con mayor frecuencia con la modulación positiva de estos dos géneros, cabe resaltar también algunas especies bacterianas clave como *Akkermansia muciniphila* y *Bacteroides thetaiotaomicron*, que crecen más rápido cuando se cultivan con polifenoles purificados (Plamada and Vodnar, 2022). Esta estimulación proviene de un cambio inducido por los compuestos fenólicos en los nichos ecológicos microbianos, el restablecimiento del equilibrio proinflamatorio y antiinflamatorio de la mucosa, la inhibición de bacterias potencialmente patógenas o el uso directo de polifenoles por las bacterias intestinales (Rodríguez et al., 2021).

El mecanismo de esta acción prebiótica ha sido mostrado en el siguiente estudio:

- *'Impact of polyphenols on human gut microbiome and associated biomarkers. In Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes', Costa and Silva, 2022.*

El genoma de las bacterias beneficiosas codifica una serie de enzimas asociadas a polifenoles (PAZymes) involucradas específicamente en la transformación de las estructuras fenólicas. En presencia de polifenoles, las bacterias productoras de PAZymes pueden utilizar estos compuestos para obtener una ventaja competitiva y, por tanto, mejorar su persistencia en los ecosistemas intestinales (Figura 16). Los microorganismos que promueven la degradación del polifenol no solo permiten la conversión de estos compuestos en metabolitos absorbibles que ejercerán una acción sistémica, sino que también proporcionan metabolitos que pueden ser

utilizados por otras especies en cadenas tróficas complejas de alimentación cruzada. Sin embargo, es importante recordar que las diferencias en la composición microbiana entre individuos pueden resultar en distintas capacidades metabólicas para procesar los compuestos fenólicos y, en consecuencia, en sus posibles impactos en la salud.

En general, son numerosos los efectos beneficiosos para la salud humana asociados con prebióticos que muestran los polifenoles, entre ellos (Figura 15):

- Proporcionan una fuente de carbono para las bacterias.
- Actúan como aceptores externos de electrones o generan fuerzas motrices de protones durante su metabolización.
- Mejoran el balance energético, así como las afecciones metabólicas e inflamatorias.
- Crean metabolitos potencialmente beneficiosos.
- Promueven la secreción local de péptidos antimicrobianos y mucosas.
- Modulan las sales biliares y la secreción de anticuerpos.
- Fortalecen las uniones estrechas y, por lo tanto, la barrera epitelial.

No obstante, los metabolitos fenólicos que resultan de la actividad de la microbiota tienen una actividad biológica muy diferente a la de los compuestos originales. Además, se ha informado que tras la metabolización por la microbiota, no solo se producen estructuras con mejor biodisponibilidad, sino que también muestran un efecto bioactivo más fuerte (Costa and Silva, 2022). En conclusión, existen evidencias en estudios preclínicos que respaldan el efecto prebiótico de los compuestos fenólicos, pero son necesarios más ensayos clínicos para investigar este efecto en humanos (Plamada and Vodnar, 2022).

#### 4.2.2.2. Efecto antimicrobiano

Se denomina agente antimicrobiano a toda sustancia química, natural o sintética, con capacidad para matar o inhibir el desarrollo de microorganismos (Usano et al., 2014). Los polifenoles presentes en el aceite de oliva virgen poseen la facultad de

frenar el desarrollo y afectar la supervivencia de microorganismos como bacterias, hongos y virus, actuando de forma directa o indirecta. De hecho, se ha demostrado un efecto antimicrobiano contra bacterias patógenas intestinales que causan enfermedades, entre ellas, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* (Costa and Silva, 2022).

A continuación, se detallan algunos trabajos que se centran en mostrar las propiedades antimicrobianas de los polifenoles sobre las bacterias intestinales, y sus posibles mecanismos de acción:

- *'Dietary EVOO Polyphenols and Gut Microbiota Interaction: Are There Any Sex/Gender Influences?'*, D'Archivio et al., 2022.

Se ha observado que de los aceites de semillas (maíz, colza, girasol, algodón y soja) ensayados hasta la fecha, ninguno muestra actividad antimicrobiana frente a los microorganismos probados, después de una hora de exposición a dichos aceites, a diferencia de los aceites de oliva. Claramente, el contenido en ácidos grasos de los aceites de oliva, en comparación con otros aceites vegetales difiere, y se podría pensar en este aspecto como causante de las diferencias en las propiedades antibacterianas. Sin embargo, esta acción exhibida por los aceites de oliva fue más pronunciada para los aceites de oliva vírgenes, posteriormente por los aceites de oliva y los de orujo de oliva, cuyo orden coincide con la disminución de los componentes fenólicos, lo cual respalda la intervención de los polifenoles en su acción antimicrobiana.

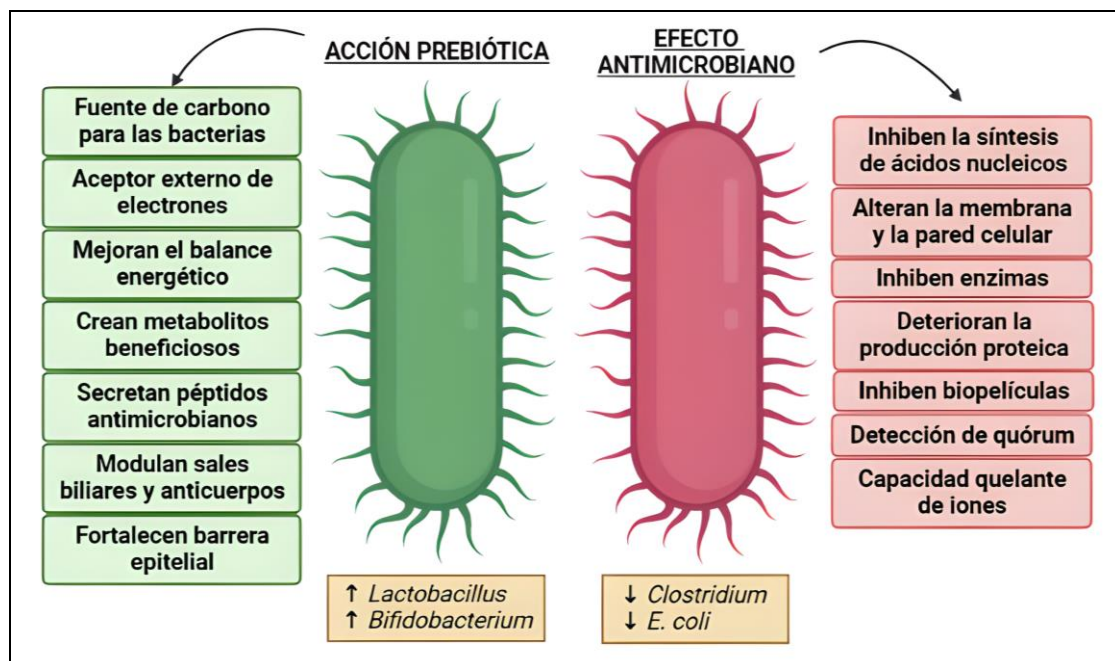
- *'Polyphenol-Mediated Gut Microbiota Modulation: Toward Prebiotics and Further'*, Rodríguez et al., 2021.

Los mecanismos por los cuales los polifenoles modulan las comunidades microbianas intestinales incluyen (Figura 15):

- Interactúan con proteínas bacterianas para inhibir la síntesis de ácidos nucleicos bacterianos.
- Alteran la función y flexibilidad de la membrana plasmática.
- Modifican la integridad y síntesis de la pared celular.

- Inhiben la síntesis de enzimas indispensables para su crecimiento.
- Deterioran la producción de proteínas.
- Afectan al metabolismo celular y previenen la formación de biopelículas.
- Inhiben patógenos oportunistas.
- Protegen el epitelio intestinal.
- Restaurar la homeostasis de la microbiota alterada en distintas enfermedades.
- Regulan la expresión de genes de virulencia y la biosíntesis de la envoltura celular (por ejemplo, en *Salmonella* y *E. coli*) e inhiben la actividad de genes asociados con la detección de quórum (por ejemplo, en *Pseudomonas*).
- Muestran capacidad quelante de iones metálicos (como el hierro, el cobre y el zinc) de los compuestos fenólicos.

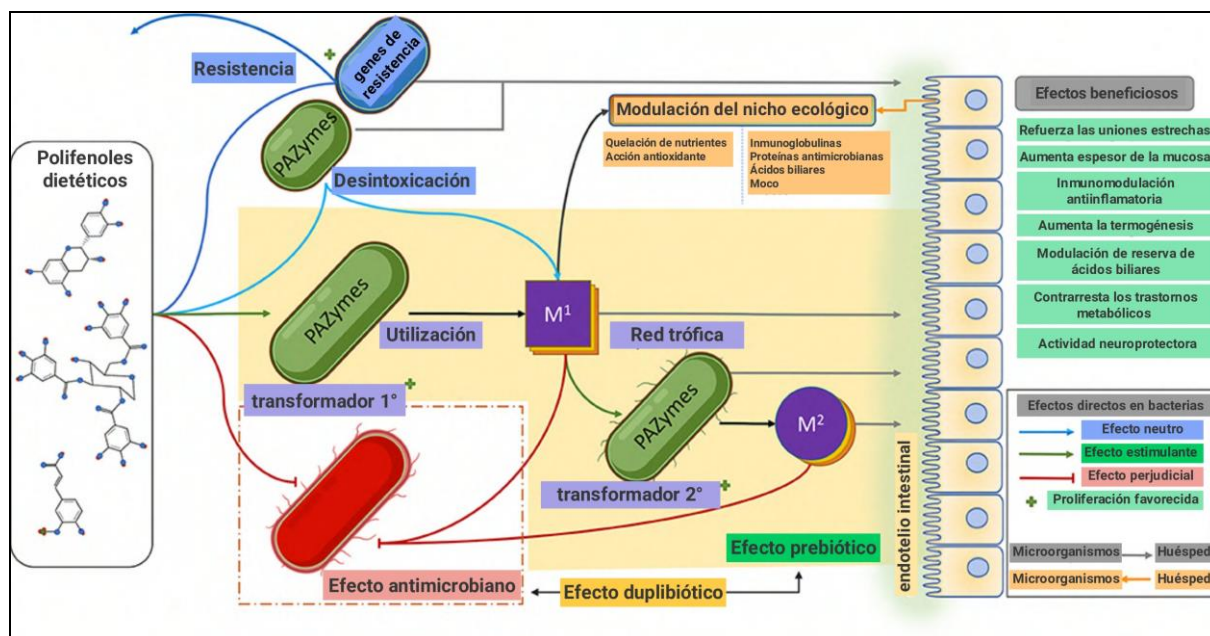
**FIGURA 15. IMPACTO DE LOS POLIFENOLES EN LA MICROBIOTA INTESTINAL**



La imagen muestra una descripción de los efectos prebióticos y antibacterianos de los polifenoles. El término 'duplubiótico' designa un compuesto no digerible que, una vez alcanzado el colon, interactúa con la microbiota intestinal a través de un doble efecto antibacteriano y prebiótico, favoreciendo un estado intestinal eubiótico y aportando beneficios para la salud del huésped. Fuente: Elaboración propia a partir de Rodríguez et al. (2021).

Finalmente, este estudio detalla el modo de acción del polifenol que da forma a la microbiota intestinal. Los polifenoles llegan al intestino donde pueden ejercer su acción antimicrobiana sobre los microorganismos. Sin embargo, como se ha comentado anteriormente, algunas bacterias contienen enzimas microbianas asociadas a polifenoles (PAZymes). Las PAZymes degradan estos compuestos fenólicos y permiten que las bacterias persistan en el entorno intestinal, lo que conduce a la producción de metabolitos bioactivos primarios (M1) que pueden estar implicados en interacciones tróficas o ser metabolizados por otros microorganismos que poseen los PAZymes, liberando metabolitos secundarios (M2), y así sucesivamente. Estos metabolitos pueden interactuar con el huésped, modulando el nicho ecológico intestinal, o inducir un efecto antimicrobiano sobre otras bacterias, obteniendo así los efectos beneficiosos. Otras bacterias pueden no tener PAZymes necesarios para degradar los compuestos fenólicos, pero pueden resistir su efecto antimicrobiano (color azul). El área amarillenta resalta el proceso de ruta prebiótica, mientras que el cuadrado discontinuo rojo indica el efecto antimicrobiano (Figura 16).

**FIGURA 16. MODO DE ACCIÓN DE LOS POLIFENOLES EN LA MICROBIOTA**



La imagen muestra el mecanismo de acción de los polifenoles sobre la microbiota intestinal, mediante el efecto prebiótico y antibacteriano. Fuente: Elaboración propia a partir de Rodríguez et al. (2021).

## 5. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se obtienen tras realizar una amplia búsqueda de estudios son:

- El aceite de oliva virgen extra, ingrediente fundamental de la MedDiet, debido a su alto contenido en compuestos fenólicos, resulta beneficioso para el bienestar, disminuyendo la probabilidad de padecer enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, hipertensión, cáncer, neurodegenerativas, virales, microbianas y cutáneas.
- Los polifenoles promueven la salud intestinal, mejorando tanto la composición como la diversidad microbiana y la función intestinal.
- La microbiota intestinal ejerce un impacto sobre los compuestos fenólicos del AOVE, participando en la biotransformación de estos, descomponiendo las estructuras fenólicas en metabolitos de bajo peso molecular.
- Los polifenoles del AOVE modulan la microbiota intestinal, mediante un doble efecto. Por un lado, ejercen una acción antimicrobiana sobre microorganismos patógenos del tracto intestinal, como *Clostridium* sp., inhibiendo su crecimiento. Por otro lado, sostienen el crecimiento de microorganismos beneficiosos presentes en la microbiota, entre ellos, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, ejerciendo como prebióticos.
- Dado que la disponibilidad de polifenoles en el organismo está mediada por la acción de la microbiota, podemos concluir que sus beneficios dependerán en gran parte de la composición microbiana de cada individuo, con las implicaciones que conlleva esto a la hora de interpretar sus efectos beneficiosos.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, J., Real, J. M. F., Guarner, F., Gueimonde, M., Rodríguez, J. M., de Pípaon, M. S., & Sanz, Y. (2021). Microbiota intestinal y salud. *Gastroenterología y Hepatología*, 44(7), 519-535.

Badiu, D., & Rajendram, R. (2021). Effect of olive oil on the skin. *Olives and olive oil in health and disease prevention*, 401-413.

Barbaro, B., Toietta, G., Maggio, R., Arciello, M., Tarocchi, M., Galli, A., & Balsano, C. (2014). Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. *International journal of molecular sciences*, 15(10), 18508–18524. <https://doi.org/10.3390/ijms151018508>

Baumann, L., & Weisberg, E. (2010). Olive oil in botanical cosmeceuticals. In *Olives and olive oil in health and disease prevention* (pp. 1117-1124). Academic Press.

Bhattarai, Y., Muniz Pedrogo, D. A., & Kashyap, P.C. (2017). Irritable bowel syndrome: A gut microbiota-related disorder? *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and hepatic physiology*, 312(1), G52–G62. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00338.2016>

Costa, E. M., & Silva, S. (2022). Impact of polyphenols on human gut microbiome and associated biomarkers. In *Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes* (pp. 25-40). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85273-9.00005-3>

D'Archivio, M., Santangelo, C., Silenzi, A., Scazzocchio, B., Vari, R., & Masella, R. (2022). Dietary EVOO Polyphenols and Gut Microbiota Interaction: Are There Any Sex/Gender Influences?. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(9), 1744. <https://doi.org/10.3390/antiox11091744>

De Stefanis, D., Scimè, S., Accomazzo, S., Catti, A., Occhipinti, A., Bertea, C. M., & Costelli, P. (2019). Anti-proliferative effects of an extra-virgin olive oil extract enriched in ligstroside aglycone and oleocanthal on human liver cancer cell lines. *Cancers*, 11(11), 1640.

Eguaras, S., Toledo, E., Buil-Cosiales, P., Salas-Salvadó, J., Corella, D., Gutierrez-Bedmar, M., ... & PREDIMED Investigators. (2015). Does the Mediterranean diet counteract the adverse effects of abdominal adiposity?. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25(6), 569-574.

Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Corella, D., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Ruiz-Gutiérrez, V., Fiol, M., Lapetra, J., Lamuela-Raventos, R. M., Serra-Majem, L., Pintó, X., Basora, J., Muñoz, M. A., Sorlí, J. V., Martínez, J. A., Fitó, M., Gea, A., Hernán, M. A., ... PREDIMED Study Investigators (2018). Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *The New England journal of medicine*, 378(25), e34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1800389>

Farràs, M., Martínez-Gili, L., Portune, K., Arranz, S., Frost, G., Tondo, M., & Blanco-Vaca, F. (2020). Modulation of the Gut Microbiota by Olive Oil Phenolic Compounds: Implications for Lipid Metabolism, Immune System, and Obesity. *Nutrients*, 12(8), 2200. <https://doi.org/10.3390/nu12082200>

Gómez Delgado, F., Alcalá Díaz, J. F., & García Ríos, A. (2014). La dieta mediterránea y su impacto en la enfermedad cardiovascular. *Dieta mediterránea*, 47.

Gorzynik Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Marino Gammazza, A., Knap, N., Wozniak, M. & Gorska-Ponikowska, M. (2018). Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (3), 686. <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>

Guasch-Ferré, M., Hu, F. B., Martínez-González, M. A., Fitó, M., Bulló, M., Estruch, R., Ros, E., Corella, D., Recondo, J., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Lapetra, J., Serra-Majem, L., Muñoz, M. A., Pintó, X., Lamuela-Raventós, R. M., Basora, J., Buil-Cosiales, P., Sorlí, J. V., Ruiz-Gutiérrez, V., ... Salas-Salvadó, J. (2014). Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study. *BMC medicine*, 12, 78. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-12-78>

Hidalgo, M., Prieto, I., Abriouel, H., Villarejo, A. B., Ramírez-Sánchez, M., Cobo, A., Benomar, N., Gálvez, A., & Martínez-Cañamero, M. (2018). Changes in Gut Microbiota Linked to a Reduction in Systolic Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats Fed an Extra Virgin Olive Oil-Enriched Diet. *Plant foods for human nutrition (Dordrecht, Netherlands)*, 73(1), 1–6. <https://doi.org/10.1007/s11130-017-0650-1>

Hidalgo, M., Prieto, I., Abriouel, H., Cobo, A., Benomar, N., Gálvez, A., & Martínez-Cañamero, M. (2014). Effect of virgin and refined olive oil consumption on gut microbiota. Comparison to butter. *Food Research International*, 64, 553–559. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.030>

Icaza Chávez, M. E. (2013). Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de México*, 78(4), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.rgmex.2013.04.004>

Jiménez Lopez, C., Carpena, M., Lourenço Lopes, C., Gallardo-Gomez, M., Lorenzo, J.M., Barba, F.J., Prieto, M.A., & Simal Gandara, J. (2020). Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil. *Foods*, 9, 1014. <https://doi.org/10.3390/foods9081014>

Ly, T. T. G., Yun, J., Lee, D. H., Chung, J. S., & Kwon, S. M. (2021). Protective Effects and Benefits of Olive Oil and Its Extracts on Women's Health. *Nutrients*, 13(12), 4279. <https://doi.org/10.3390/nu13124279>

Mahdiyeh Taheri., & Leila Amiri-Farahani. (2021). Anti-Inflammatory and Restorative Effects of Olives in Topical Application. *Dermatology Research and Practice*, Article ID 9927976. <https://doi.org/10.1155/2021/9927976>

Marcelino, G., Hiane, P. A., Freitas, K. C., Santana, L. F., Pott, A., Donadon, J. R., & Guimarães, R. C. A. (2019). Effects of Olive Oil and Its Minor Components on Cardiovascular Diseases, Inflammation, and Gut Microbiota. *Nutrients*, 11(8), 1826. <https://doi.org/10.3390/nu11081826>

Martínez, N., Prieto, I., Hidalgo, M., Segarra, A. B., Martínez-Rodríguez, A. M., Cobo, A., Ramírez, M., Gálvez, A., & Martínez-Cañamero, M. (2019). Refined versus Extra Virgin Olive Oil High-Fat Diet Impact on Intestinal Microbiota of Mice and Its Relation to Different Physiological Variables. *Microorganisms*, 7(2), 61. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7020061>

Medina Martínez, M. S., Truchado, P., Castro-Ibáñez, I., & Allende, A. (2016). Antimicrobial activity of hydroxytyrosol: a current controversy. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 80(4), 801–810. <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1116924>

Medina-Remón, A., Tresserra-Rimbau, A., Pons, A., Tur, J. A., Martorell, M., Ros, E., ... & PREDIMED Study Investigators. (2015). Effects of total dietary polyphenols on plasma nitric oxide and blood pressure in a high cardiovascular risk cohort. The PREDIMED randomized trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25(1), 60-67.

Mehany, T., Khalifa, I., Barakat, H., Althwab, S. A., Alharbi, Y. M., & El-Sohaimy, S. (2021). Polyphenols as promising biologically active substances for preventing SARS-CoV-2: A review with research evidence and underlying mechanisms. *Food Bioscience*, 40, 100891. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100891>

Menotti, A., & Puddu, P. E. (2015). How the Seven Countries Study contributed to the definition and development of the Mediterranean diet concept: a 50-year journey. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*, 25(3), 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2014.12.001>

Merra, G., Noce, A., Marrone, G., Cintoni, M., Tarsitano, M. G., Capacci, A., & De Lorenzo, A. (2020). Influence of Mediterranean Diet on Human Gut Microbiota. *Nutrients*, 13(1), 7. <https://doi.org/10.3390/nu13010007>

Monteiro, M., Silva, A. F. R., Resende, D., Braga, S. S., Coimbra, M. A., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2021). Strategies to Broaden the Applications of Olive Biophenols Oleuropein and Hydroxytyrosol in Food Products. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(3), 444. <https://doi.org/10.3390/antiox10030444>

Plamada, D., & Vodnar, D.C. (2022). Polyphenols - Gut Microbiota Interrelationship: A Transition to a New Generation of Prebiotics. *Nutrients*, 14, 137. <https://doi.org/10.3390/nu14010137>

Prieto, I., Hidalgo, M., Segarra, A. B., Martínez-Rodríguez, A. M., Cobo, A., Ramírez, M., Abriouel, H., Gálvez, A., & Martínez-Cañamero, M. (2018). Influence of a diet enriched with virgin olive oil or butter on mouse gut microbiota and its correlation to physiological and biochemical parameters related to metabolic syndrome. *PloS one*, 13(1), e0190368. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190368>

Przychodzen, P., Wyszowska, R., Gorzynik-Debicka, M., Kostrzewa, T., Kuban-Jankowska, A., & Gorska-Ponikowska, M. (2019). Anticancer potential of oleuropein, the polyphenol of olive oil, with 2-methoxyestradiol, separately or in combination, in human osteosarcoma cells. *Anticancer research*, 39(3), 1243-1251.

Ray, S. K., & Mukherjee, S. (2021). Evolving Interplay Between Dietary Polyphenols and Gut Microbiota, An Emerging Importance in Healthcare. *Frontiers in nutrition*, 8, 634944. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.634944>

Rodríguez Daza, M. C., Pulido-Mateos, E. C., Lupien-Meilleur, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y., & Roy, D. (2021). Polyphenol-Mediated Gut Microbiota Modulation: Toward Prebiotics and Further. *Frontiers in nutrition*, 8, 689456. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.689456>

Romani, A., Ieri, F., Urciuoli, S., Noce, A., Marrone, G., Nediani, C., & Bernini, R. (2019). Health Effects of Phenolic Compounds Found in Extra-Virgin Olive Oil, By-Products, and Leaf of *Olea europaea* L. *Nutrients*, 11(8), 1776. <https://doi.org/10.3390/nu11081776>

Salas-Salvadó, J., Bulló, M., Babio, N., Martínez-González, M. Á., Ibarrola-Jurado, N., Basora, J., Estruch, R., Covas, M. I., Corella, D., Arós, F., Ruiz-Gutiérrez, V., Ros, E., & PREDIMED Study Investigators (2011). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with the Mediterranean diet: results of the PREDIMED-Reus nutrition intervention randomized trial. *Diabetes care*, 34(1), 14–19. <https://doi.org/10.2337/dc10-1288>

Salis, C., Papageorgiou, L., Papakonstantinou, E., Hagidimitriou, M., Vlachakis, D. (2020). Olive Oil Polyphenols in Neurodegenerative Pathologies. In: Vlamos, P. (eds) *GeNeDis 2018. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1195. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-32633-3\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-32633-3_12)

Sánchez Rodríguez, E., & D Mesa, M. (2018). Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen. Revisión. *Nutrición Clínica Médica*. ;XII(2):80–94. <http://dx.doi.org/10.7400/NCM.2018.12.2.5064>

Serreli, G., & Deiana, M. (2020). Extra Virgin Olive Oil Polyphenols: Modulation of Cellular Pathways Related to Oxidant Species and Inflammation in Aging. *Cells*, 9(2), 478. <https://doi.org/10.3390/cells9020478>

Toledo, E., Hu, F. B., Estruch, R., Buil-Cosiales, P., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Covas, M. I., Arós, F., Gómez-Gracia, E., Fiol, M., Lapetra, J., Serra-Majem, L., Pinto, X., Lamuela-Raventós, R. M., Saez, G., Bulló, M., Ruiz-Gutiérrez, V., Ros, E., Sorli, J. V., & Martínez-Gonzalez, M. A. (2013). Effect of the Mediterranean diet on blood pressure in the PREDIMED trial: results from a randomized controlled trial. *BMC medicine*, 11, 207. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-207>

Toledo, E., Salas-Salvadó, J., Donat-Vargas, C., Buil-Cosiales, P., Estruch, R., Ros, E., ... & Martínez-Gonzalez, M. A. (2015). Mediterranean diet and invasive breast cancer risk among women at high cardiovascular risk in the PREDIMED trial: a randomized clinical trial. *JAMA internal medicine*, 175(11), 1752-1760.

Usano Alemany, J., Paúl, J. P., & Díaz, S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Reduca (Biología)*, 7(2).

Valdés, A.M., Walter, J., Segal, E., & Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ (Clinical research ed.)*, 361, k2179. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>

Villalpando Bautista, A. J. (2016). "Actividad antimicrobiana de polifenoles basados en el ácido gálico sintetizados enzimáticamente". (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/267542>

Wainstein, J., Ganz, T., Boaz, M., Bar Dayan, Y., Dolev, E., Kerem, Z., & Madar, Z. (2012). Olive leaf extract as a hypoglycemic agent in both human diabetic subjects and in rats. *Journal of medicinal food*, 15(7), 605–610. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0243>

Wang, X., Qi, Y., & Zheng, H. (2022). Dietary Polyphenol, Gut Microbiota, and Health Benefits. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 11(6), 1212. <https://doi.org/10.3390/antiox11061212>